

**Univerzita Karlova v Praze**  
**Farmaceutická fakulta v Hradci Králové**  
Katedra farmaceutické technologie

**Studium faktorů ovlivňujících dávkovou stejnoměrnost  
nosních sprejů.**

**Study of factors influencing the dose uniformity of nasal sprays.**

**DIPLOMOVÁ PRÁCE**

**2012**

**Kamila Barboříková**

### **Prohlášení**

Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem pro zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

V Hradci Králové dne .....

.....

podpis autora

### **Poděkování**

Především bych chtěla mnohokrát poděkovat vedoucí své diplomové práce Doc. PharmDr. Zdeňce Šklubalové, Ph.D. za vřelý přístup, cenné rady a odborné vedení při vypracování diplomové práce. Ráda bych také poděkovala mému manželovi a rodině za jejich podporu během celé doby mého studia.

# Obsah

|         |  |    |
|---------|--|----|
| 1       | Abstrakt.....                                    | 6  |
| 2       | Abstract.....                                    | 7  |
| 3       | Zadání .....                                     | 8  |
| 4       | Seznam použitých zkratk a symbolů.....           | 9  |
| 5       | Úvod.....  | 10 |
|         | Teoretická část .....                            | 11 |
| 5.1     | Nosní aplikace .....                             | 11 |
| 5.2     | Nosní přípravky.....                             | 13 |
| 5.3     | Formulační požadavky .....                       | 14 |
| 5.3.1   | Anatomie a fyziologie nosu .....                 | 14 |
| 5.3.2   | Vlastnosti léčivého přípravku .....              | 15 |
| 5.4     | Faktory ovlivňující depozici v nosní dutině..... | 18 |
| 5.5     | Dávkovací systémy pro nasalia.....               | 20 |
| 5.5.1   | Tekuté nosní přípravky .....                     | 20 |
| 5.5.1.1 | Systémy pro kapky .....                          | 20 |
| 5.5.1.2 | Systémy pro spreje .....                         | 22 |
| 5.5.2   | Práškové nosní přípravky.....                    | 24 |
| 5.5.2.1 | Systémy pro prášky .....                         | 25 |
|         | Experimentální část.....                         | 28 |
| 5.6     | Použité suroviny.....                            | 28 |
| 5.7     | Použité přístroje .....                          | 28 |
| 5.8     | Použité metody.....                              | 28 |
| 5.8.1   | Měření hustoty .....                             | 28 |
| 5.8.2   | Měření osmolality .....                          | 29 |
| 5.8.3   | Měření viskozity .....                           | 29 |
| 5.8.4   | Měření povrchového napětí .....                  | 30 |
| 5.8.5   | Rozprášení spreje.....                           | 31 |

|       |  |    |
|-------|--|----|
| 5.8.6 | Stejnoměrnost dávkových jednotek .....         | 32 |
| 5.8.7 | Zpracování výsledků .....                      | 32 |
| 6     | Výsledky .....                                 | 35 |
| 7     | Diskuse.....                                   | 49 |
| 7.1   | Fyzikálně chemické vlastnosti .....            | 49 |
| 7.2   | Intenzita rozprášení .....                     | 50 |
| 7.3   | Vliv zbytkového objemu na hmotnost dávky.....  | 51 |
| 7.4   | Vliv teploty uchovávání na hmotnost dávky..... | 51 |
| 7.5   | Hmotnostní a dávková stejnoměrnost .....       | 51 |
| 7.5.1 | Hmotnostní stejnoměrnost .....                 | 52 |
| 7.5.2 | Hmotnostní proměnlivost dávky.....             | 52 |
| 8     | Závěry .....                                   | 54 |
| 9     | Použitá literatura .....                       | 55 |

## 1 Abstrakt

Nosní spreje jsou v poslední době preferovány před nosními kapkami. Cílem této práce bylo studium faktorů, ovlivňujících dávkovou stejnoměrnost komerčního dávkovaného nosního spreje s obsahem účinné látky s lokálním účinkem na sliznici. Byly sledovány fyzikálně-chemické vlastnosti přípravku (hustota, osmolalita, viskozita a povrchové napětí), vliv zbytkového objemu a teploty skladování na hmotnost dávky. Hmotnost dávky a průměr rozprášení (*spray diameter*, *SD*) byly významně ( $P \geq 0,99$ ) ovlivněny zbytkovým objemem přípravku 10, 5 a/nebo 1 ml; se snižováním objemu se hmotnost dávky i *SD* zvětšovaly. Teplota skladování 8° C nebo 25° C neměly na hmotnost dávky významný vliv.

## 2 Abstract

Nasal sprays are preferred to nose drops recently. The goal of this work was study of factors affecting dosage uniformity of commercial dosed nasal spray with content of active substance with local effect on mucous membrane. The influence of physico-chemical properties of a preparation (density, osmolality, viscosity, and surface tension), the residual volume of a preparation, and temperature of storage on weight of the dose were investigated. The dose weight and the spray diameter (SD) were significantly ( $P \geq 0,99$ ) influenced by the residual volume of a preparation 10, 5 and/or 1 ml. With reduction of the residual volume the dose weight and SD were increasing. Temperature of storage 8° C and/or 25° C had no significant effect on dose weight.

### 3 Zadání

Cílem této diplomové práce je v teoretické části zpracovat literární rešerši zaměřenou na nosní přípravky a požadavky na jejich vlastnosti.

V experimentální části budou měřeny fyzikálně-chemické vlastnosti tří různých šarží komerčního dávkovaného nosního spreje – hustota, osmolalita, viskozita a povrchové napětí. Budou studovány faktory, potenciálně ovlivňující stejnoměrnost dávky, jako je zbytkový objem přípravku a teplota uchovávání a bude hodnocen jejich vliv na hmotnost dávky a průměr rozprašení (*spray diameter*, *SD*).



## 4 Seznam použitých zkratk a symbolů

|             |   |
|-------------|---|
| A           | konstanta viskozimetru = $0,002998 \text{ mm}^2/\text{s}^2$                     |
| AV          | acceptance value  |
| B           | konstanta ke korekci na kinetickou energii = $2,38 \text{ mm}^2 \cdot \text{s}$ |
| C           | chlad (cold)  |
| k           | konstanta přijatelnosti (pro n = 10 je 2,4)                                     |
| m           | hmotnost dávky (mg)   |
| M           | referenční hodnota  |
| $\eta$      | dynamická viskozita ( $\text{Pa} \cdot \text{s}$ )                              |
| $P_T$       | počet kapek vzorku  |
| $P_V$       | počet kapek vody  |
| R           | teplota místnosti (room)  |
| RP          | registrovaný přípravek  |
| $\rho$      | hustota ( $\text{g}/\text{cm}^3$ )  |
| $\rho_T$    | hustota vzorku ( $\text{g}/\text{cm}^3$ )                                       |
| $\rho_V$    | hustota vody při $25^\circ\text{C}$ = $0,9971 \text{ g}/\text{cm}^3$            |
| s           | směrodatná odchylka   |
| SD          | průměr rozprášení ( <i>spray diameter</i> ) (mm)                                |
| $\sigma_T$  | povrchové napětí vzorku ( $\text{mN}/\text{m}$ )                                |
| $\sigma_V$  | povrchové napětí vody ( $\text{mN}/\text{m}$ )                                  |
| $t$         | průměrný čas průtoku (s)  |
| $t'$        | korigovaný průměrný čas průtoku (s)   |
| T           | cílová dávka $22,5 \text{ } \mu\text{g}$  |
| %T          | hmotnostní proměnlivost dávky   |
| v           | kinematická viskozita ( $\text{mm}^2/\text{s}$ )                                |
| $\emptyset$ | průměr  |

## 5 Úvod

Perorální podávání léčiv je nejpoužívanější a nejžádanější cesta, pokud je záměr dosažení systémového účinku. I když zůstává tato aplikační cesta nejoblíbenější, nízká biologická dostupnost některých látek vedla k hledání účinnějších cest pro jejich systémové dodání. Intranasální aplikace léčiv je nyní považována za užitečnou a spolehlivou alternativu k perorálnímu a parenterálnímu podávání léčiv. V posledních desetiletích vzrostl zájem o intranasální podávání léků jakožto neinvazivní cesty podání. Nosní sliznice poskytuje řadu výhod pro podávání léčiv, proto může být intranasálně podávána široká škála léčivých látek pro lokální, systémové působení a působení na centrální nervový systém.<sup>1</sup>

Nosní kapky jsou nejjednodušší a nejvhodnější nosní technologickou formou, ale přesné množství dávkovaného léčiva se nedá jednoduše kvantifikovat a často ústí v předávkování. Spreje se od nosních kapek liší způsobem aplikace a balením. Jsou baleny ve stlačitelných plastových lahvích či nádobkách s dávkovacím stlačitelným ventilem. Roztokové a suspenzní nosní spreje jsou preferovány před práškovými spreji, protože ty snadno způsobí podráždění nosní sliznice. Nedávno byly vyvinuty gelové prostředky pro přesnější zavedení léčiva. Během posledních let byly vyvinuty specializované systémy jako tukové emulze, mikrosféry, liposomy a filmy ke zlepšení dávkování nosního léčiva.<sup>2</sup>

Nosní přípravky by měly být nedráždivé. Lepší jsou vodné přípravky, které mají menší vliv na ciliární funkci než přípravky olejové. Vyhnout bychom se měli použití tekutého parafinu a v nosních sprejích by měl být zakázán úplně.<sup>3</sup>

Aby se zabránilo podráždění nosní sliznice, měly by být vodné nosní přípravky izotonické. Na rozdíl od očních kapek zde není vyžadována sterilita. U vícedávkových obalů musí být vyloučena mikrobiální kontaminace přidáním vhodných protimikrobních látek. Z tohoto důvodu se vyžaduje dvou- až čtyřtýdenní použitelnost.<sup>3</sup>

## **Teoretická část**

### **5.1 Nosní aplikace**

Již dlouhou dobu se široce využívá intranasálního podání léků pro zmírnění příznaků, prevenci či léčbu lokálních nosních onemocnění. Nedávno se však nosní sliznice ukázala jako terapeuticky vhodná pro systémovou aplikaci léčiv. Primárně se pro transnasální aplikaci používají farmakologicky účinné látky se špatnou stabilitou v gastrointestinálních tekutinách, špatnou střevní absorpcí a nadměrnou eliminací při prvním průchodu játry, jako jsou peptidy, proteiny a polární léčiva. Nosní aplikace se zdá být příznivým způsobem, jak obejít překážky pro HEB (hematoencefalická bariéra), což umožňuje přímou dodávku léčiv do centrálního nervového systému (CNS). Rovněž se o tom uvažuje pro dávkování vakcín.<sup>1</sup>

Rozšířený zájem o transnasální aplikaci pro léčebné účely, jiné než lokálně aplikované nosní léky, vychází z konkrétní anatomické, fyziologické a histologické charakteristiky nosní dutiny, která poskytuje potenciál pro rychlou systémovou absorpci léčiv a rychlý nástup účinku. Kromě toho se transnasální absorpce vyhýbá gastrointestinálnímu a jaternímu presystémovému metabolismu, zlepšuje biologickou dostupnost léčiv ve srovnání s léčivy získanými po gastrointestinální absorpci. Intranasální aplikace přináší rovněž několik praktických výhod jak z pohledu pacientů (neinvazivnost, bezbolestnost, snadná aplikace léčiv a příznivý profil snášenlivosti), tak pro farmaceutický průmysl (není nutná sterilizace nosních přípravků). Pokud vezmeme v potaz výhody plynoucí ze samotné podstaty transnasální aplikace, která pacientům vyhovuje, společně s farmakokinetickými výhodami, zdá se býti vhodnou cestou k léčbě nejen akutních nebo chronických nosních onemocnění, ale také pro řadu akutních nebo chronických potíží, které vyžadují značný systémový účinek.<sup>1</sup>

Přes všechny výhody představuje nosní distribuce léčiv i určitá omezení, která musí být brána v úvahu při objevování nových chemických látek zvažovaných pro nosní léčbu, stejně jako při vývoji nosních přípravků. Za prvé, kromě fyzikálně-chemických vlastností látek a charakteristik jejich konečných přípravků, může snížit

rozsah absorpce nosního přípravku a účinnost léčby celá řada fyziologických i patologických potíží souvisejících s nosní sliznicí.<sup>1</sup> Stálost léčiv může být ovlivněna enzymatickou aktivitou. V nosní sliznici jsou totiž přítomny četné enzymy (proteázy, aminopeptidázy), které mohou vést k rozkladům proteinů.<sup>4</sup>

Kromě toho omezuje množství léčebného přípravku malý objem nosní dutiny, do které může být podáno asi 100 - 150  $\mu$ l. V důsledku toho se mohou objevit dílčí problémy, a to pokud je potřeba dodání vysokých dávek ve vodě málo rozpustných látek. Nicméně lze tyto nedostatky často překonat využitím farmaceutické chemie anebo pomocí farmaceutické technologie zahrnujících například syntézu proléčiv, použití látek zvyšující propustnost léků nebo bioadhezivních polymerů zadržující tekutinu v nosní dutině po delší dobu.<sup>1</sup>

Rovněž mohou být využity enzymatické inhibitory na ochranu léčiv proti enzymatické degradaci v nosní sliznici. Při užití těchto látek je však třeba dbát opatrnosti vzhledem k jejich možným rizikům pro vyvolání nosního podráždění nebo systémových toxických účinků. V posledních několika letech bylo publikováno množství vynikajících hodnocení, která detailně zkoumala některé konkrétní aspekty týkající se potenciálního léčebného využití intranasálního způsobu podávání léčiv.<sup>1</sup>

Jak již bylo řečeno, není nosní aplikace použitelná pro všechna léčiva. I přes vysokou propustnost nosní sliznice, mnoho léčiv nemusí být dostatečně vstřebáno, právě z důvodu nízké rozpustnosti léčiva ve vodě. Některé léky mohou způsobit podráždění nosu, jiné mohou prodělat metabolickou degradaci v nosní dutině. Nosní cesta je méně vhodná pro chronicky podávané léky. Například inzulín pro léčbu cukrovky typu I nemusí být vhodným kandidátem pro nosní aplikaci, protože by si pacienti museli podávat tento lék denně po zbytek jejich života. Terapeuticky využitelný se zdá být pouze v případě, že se podává méně často. Dále léčivé látky, které vyžadují dlouhodobou hladinu v krvi, by neměly být zvažovány pro nosní aplikaci, neboť neexistuje obecně užívaný způsob zajišťující dlouhodobé uvolňování.<sup>5</sup>

## **5.2 Nosní přípravky**

Nosní přípravky (lat. Nasalia) jsou tekuté, polotuhé nebo pevné přípravky určené k podání do nosní dutiny k dosažení systémového nebo místního účinku. Obsahují jednu nebo více léčivých látek. Nosní přípravky by měly být nedráždivé a bez příznivého vlivu na funkce nosní mukosy a cilií. Vodné nosní přípravky jsou obvykle izotonické a mohou obsahovat pomocné látky, např. pro úpravu viskozity přípravku nebo stabilizaci pH, pro zvýšení rozpustnosti léčivé látky nebo pro stabilizaci přípravku. Nosní přípravky se dodávají ve vícedávkových nebo jednodávkových obalech opatřených vhodným aplikačním zařízením zabezpečeným proti znečištění. Vodné nosní přípravky dodávané ve vícedávkových obalech obsahují vhodné protimikrobní látky ve vhodné koncentraci. Český lékopis rozlišuje několik druhů nosních přípravků.<sup>6</sup>

### **Nosní kapky a tekuté nosní spreje**

Nosní kapky a tekuté nosní spreje (lat. Rhinoguttae et likvida nasalia pro aerodispersione) jsou roztoky, emulze nebo suspenze určené ke vkápnutí nebo vstříknutí do nosní dutiny. Nosní kapky se obvykle dodávají ve vícedávkových obalech opatřených vhodným aplikátorem. Tekuté nosní spreje se dodávají v obalech s rozprašovacím zařízením nebo v tlakových obalech opatřených vhodným aplikátorem, s dávkovacím ventilem nebo bez něho.<sup>6</sup>

### **Nosní zásypy**

Nosní zásypy (lat. Pulveres adspersorii nasales) jsou přípravky tvořené pevnými sypkými suchými částicemi, jejichž velikost je taková, aby usazování bylo omezeno na nosní dutinu. Jsou určeny k insuflaci do nosní dutiny pomocí vhodného zařízení.<sup>6</sup> Obsahují jednu nebo více léčivých látek s pomocnými látkami nebo bez nich. Nosní zásypy mohou být jednodávkové (dělené) nebo vícedávkové (nedělené) přípravky. Vícedávkové se mohou dodávat v obalech s mechanickým rozprašovačem nebo v tlakových obalech.<sup>7</sup>

### **Polotuhé nosní přípravky**

Polotuhé nosní přípravky (lat. Nasalia semisolidi) mají homogenní vzhled a jsou tvořeny jednoduchým nebo složeným základem, v němž je zpravidla rozpuštěna nebo

dispergována jedna nebo více léčivých látek. Účinek přípravku lze ovlivňovat složením základu.<sup>8</sup> Jsou dodávány v obalech, které umožňují podání přípravku na místo aplikace.<sup>6</sup>

### **Nosní výplachy**

Nosní výplachy (lat. Lotiones nasales) jsou obvykle vodné roztoky určené k čištění nosních dutin. Přípravky určené pro aplikaci na poraněné části nebo před chirurgickým zákrokem musí být sterilní.<sup>6</sup>

### **Nosní tyčinky**

Nosní tyčinky (lat. Styli nasales) jsou pevné přípravky válcovitého nebo kónického tvaru obsahující jednu nebo více léčivých látek. Léčivé látky mohou být rozpuštěné nebo dispergované ve vhodném základu, který se rozpustí nebo taje při teplotě těla.<sup>9</sup>

## **5.3 Formulační požadavky**

### **5.3.1 Anatomie a fyziologie nosu**

Nos je důležitým orgánem horních dýchacích cest. Hlavní funkcí nosní dutiny jsou dýchání a čich. Další je funkce ochranná - filtruje, zvlhčuje a otepluje vdechovaný vzduch. Anatomie a histologie jednotlivých oblastí nosní dutiny umožňují tyto funkce optimálně provádět. Celková plocha nosní dutiny je asi 150 cm<sup>2</sup> a celkový objem přibližně 15 ml.<sup>10</sup> Nosní přepážka (septum) rozděluje nosní dutinu na dvě symetrické poloviny. Septum se převážně skládá z chrupavky a kůže, díky čemuž je proniknutí léčiva pomalé.<sup>4</sup>

Nejefektivnější oblastí pro vstřebání léčiva je vysoce vaskularizovaná laterální stěna nosní dutiny - sliznice lemovaná nad nosními skořepami. Každá polovina nosní dutiny se skládá ze čtyř oblastí: nosní vestibul, atrium, respirační region a čichový region.<sup>4</sup>

Nosní dutina je pokryta hlenovou vrstvou a řasinkami, které zachycují inhalované částice a patogeny. Vrstva nosního hlenu hraje důležitou roli při ochraně dýchacích cest, protože chrání plíce před cizími látkami, patogeny a před vdechnutými částicemi. Tito činitelé se přichytí na vrstvu hlenu a dostanou se do nosohltanu,

případně také do gastrointestinálního traktu. Toto vyloučení je označováno jako mukociliární clearance (MCC) a je tzv. samočisticím mechanismem dýchacích cest.<sup>1</sup> MCC také výrazně ovlivňuje nosní vstřebávání léčiv. Systém MCC je označován jako „pásový dopravník“, kde řasinky jsou řídící silou, zatímco hlen působí jako lepkavá tekutina, která sbírá a likviduje cizí částice. Účinnost MCC tedy záleží na délce, hustotě a frekvenci pohybu řasinek stejně tak, jako na množství a viskoelastických vlastnostech hlenu. Stručně řečeno, všechny faktory zvyšující produkci hlenu, snižující viskozitu hlenu nebo zvyšující frekvenci pohybu řasinek mohou zvýšit MCC. Při fyziologických podmínkách se hlen pohybuje rychlostí 5 mm/min a jeho doba přesunu do lidské dutiny nosní je 15-20 min. Pokud se tedy MCC snižuje, doba působení léčivého přípravku v nosní sliznici se zvyšuje a zvyšuje se i jeho působení. Opačnou reakci můžeme sledovat, pokud dojde ke snížení MCC.<sup>1</sup>

Clearance léčiva z nosní dutiny je také ovlivněna místem působení. Léčivo působící v zadní oblasti nosu je z nosní dutiny vyloučeno mnohem rychleji než léčivo působící vpředu. Je to hlavně proto, že MCC je v přední části nosu pomalejší než ve více ochlupené zadní části. Na druhou stranu je místo působení léčiva v nose vysoce závislé na způsobu dávkování. Nosní spreje uloží léčivo více v přední části než nosní kapky, což zapříčiní pomalejší clearance léčiv podaných formou spreje. Polární léčiva jsou nejvíce ovlivněna MCC, poněvadž jsou vysoce rozpustné v hlenu a jejich průchod membránou je velice pomalý. Proto všechny faktory, které ovlivňují účinnost a rychlost MCC, mohou ovlivnit profil vstřebávání léčiva. Například kouření cigaret snižuje MCC, zároveň zvyšuje viskozitu hlenu a zmenšuje počet řasinek. Mimo to mohou také změnit systém MCC některá složení léků, jako třeba protimikrobní látky a urychlovače nosního vstřebávání.<sup>1</sup>

Podrobněji byla anatomie a fyziologie nosu popsána v diplomové práci Martiny Bašové z roku 2011.<sup>11</sup>

### **5.3.2 Vlastnosti léčivého přípravku**

Dle Pirese a kol.<sup>1</sup> ovlivňují intranasální aplikaci tyto vlastnosti léčivého přípravku:

## **Léková forma**

Nosní kapky jsou nejjednodušší a nejvhodnější nosní technologickou formou, ale přesné množství dávkovaného léčiva se nedá jednoduše kvantifikovat a často ústí v předávkování. Navíc může dojít k rychlému nosnímu odvodňování během používání této dávkovací formy. Roztokové a suspenzní nosní spreje jsou preferovány před práškovými spreji, protože ty snadno způsobí podráždění nosní sliznice. Nedávno byly vyvinuty gelové prostředky pro přesnější zavedení léčiva. Toto zlepšuje dobu působení léčiva a snižuje MCC a tím teoreticky narůstá nosní absorpce. Během posledních let byly vyvinuty specializované systémy jako tukové emulze, mikrosféry, liposomy a filmy ke zlepšení dávkování nosního léčiva.<sup>1</sup>

## **Viskozita**

Při zvýšení viskozity se doba kontaktu léčiva s nosní sliznicí zvyšuje a tím se zvyšuje vstřebávání léčiva. Vysoká viskozita přípravku ovlivňuje normální frekvenci pohybu řasinek a MCC, a proto se také zvyšuje propustnost léčiv. Toto bylo pozorováno při nosním podání inzulinu, acykloviru a metoprololu. Nicméně někdy zvýšení viskozity přípravku nezvýší vstřebávání léčiva, což bylo zjištěno ve studii zhodnocující vliv viskozity přípravku na dobu udržení metoklopramidu-hydrochloridu v nosní dutině a na jeho vstřebání. Zajímavé je, že i když se doba kontaktu při zvýšené viskozitě zvýšila, vstřebání léčiva se zmenšilo. Toto zjištění bylo připsáno nízkým rozptýlením léčiva v přípravku. Na druhou stranu bylo také zjištěno, že viskozita roztoku může poskytnout delší terapeutickou dobu nosních léčiv.<sup>1</sup>

Harris a kol.<sup>12</sup> zkoumal účinek methylcelulosity na velikost částic a dávkovací přesnost sprejových pump obsahujících peptid desmopressin (DDAVP). Experimentálně byly připraveny roztoky obsahující 0%, 0,25% nebo 0,5% (w/v) methylcelulosity v 0,9% roztoku chloridu sodného (w/v), s přísadou 0,5% chlorbutanolu (w/v).

Byly testovány dva systémy nosního podávání: kalibrovaný plastový katetr a nosní sprej, které aplikovaly dávku 100  $\mu$ l při teplotě  $34 \pm 1^\circ\text{C}$ , což odpovídá teplotě nosní sliznice. Roztoky methylcelulosity jsou newtonovské kapaliny a vykazují



pseudoplastické vlastnosti. Autoři předpokládali, že přídavek methylcelulosy bude mít jen malý vliv na smykovou rychlost při stlačení pumpy.

Ve studii byla provedena analýza velikosti částic každého přípravku ve spreji za použití laserové difrakce. Distribuce velikosti částic z jednotlivých roztoků ukázala vzestup velikosti částic s rostoucí koncentrací methylcelulosy. Průměr kapek spreje byl 51,3  $\mu\text{m}$  u placebo roztoku (bez methylcelulosy) a 81,3 a 200  $\mu\text{m}$  u 0,25% a 0,5% roztoku methylcelulosy.

Autoři také monitorovali lokalizaci kapek po aplikaci. Kapky vytvořené sprejem byly ukládány v přední oblasti nosní dutiny, především v atriu, zatímco kapky podané nosním katetrem se rozprostřely rovnoměrněji v nosní dutině, hltanu a dutinách. Přidání methylcelulosy však ovlivnilo ukládání spreje a kapek také jiným způsobem. U 0,5% roztoku byla prokázána rychlejší clearance. Zjistilo se, že optimální průměrná velikost částic leží v oblasti od 59 do 80  $\mu\text{m}$ . Biologická dostupnost je shodná pro roztok s methylcelulosou či bez ní.

Jiné látky zvyšující viskozitu, jako jsou třeba polyakrylátové gely, ve studiích ukázaly, že zvyšují biologickou dostupnost, avšak způsobují podráždění membrány nosní sliznice a morfologické změny.<sup>12</sup>

Všechna zjištění ukázala, že viskozita, velikost částic a nosní clearance jsou důležité parametry ve vývoji nosních přípravků. Když viskozita a velikost částic vzroste na optimální úroveň, zvýší se retenční čas. Když viskozita a velikost částic stále dále roste, následuje snížení retenčního času a rychlejší nosní clearance.<sup>12</sup>

## **pH**

Rozsah nosního vstřebávání je závislý na pKa léčiva a pH na absorpční straně, k čemuž přispívá také pH přípravku. Proto by pH přípravku mělo být vybráno dle stability léčiva. Nicméně pH přípravku může vyvolat podráždění nosní sliznice, a proto by se mělo podobat takovému, které se vyskytuje na lidské nosní sliznici (5,0 – 5,6). Mimo to pH částečně chrání před nárůstem bakterií. Lysozym vyskytující se v nosních sekretech je zodpovědný za ničení bakterií při kyselém pH. V zásaditém prostředí se lysozym neaktivuje a nosní tkáň je citlivá na mikrobiální infekci. Právě proto se doporučuje složení přípravku na pH od 4,5 do 6,5.<sup>4</sup> Na druhou stranu,

pokud hodnoty pH byly pod 3 nebo přesáhly hodnotu 10, byly zpozorovány intracelulární poškození na úrovni membrány. Důležité jsou také fyzikálně-chemické vlastnosti léčiva, které umožňují vstřebávání v neionizované formě.<sup>1</sup>

### **Farmaceutické pomocné látky**

V nosních přípravcích může být přítomna široká škála různých farmaceutických pomocných látek a ty jsou rozděleny dle svých funkcí.<sup>1</sup> Nejčastějšími pomocnými látkami jsou gelující/viskózní přísady (methylcelulosa, hydroxypropylcelulosa) prodlužující dobu kontaktu a zlepšující absorpci léčiva. Pro zvýšení rozpustnosti léčiva ve vodě se používají solubilizéry (glykoly, alkoholy, ethylenglykoly, glyceridy, příp. cyklodextrin).<sup>4</sup>

Většina nosních přípravků je na vodní bázi, proto jsou k ochraně proti nárůstu mikroorganismů zapotřebí protimikrobní látky (parabeny, benzalkoniumchlorid, fenylethylalkohol a benzylalkohol). Bylo dokázáno, že protimikrobní látky obsahující rtuť mají rychlý a nezvratný dopad na pohyby řasinek a neměly by být používány v nosních přípravcích.<sup>4</sup> K ochraně léčiv před oxidací může být vyžadováno malé množství antioxidantů (disiřičitan sodný, hydrogensiřičitan sodný, butyl-hydroxytoluen, tokoferol). Mnoho alergických a chronických onemocnění je často spojeno s tvrdnutím a vysušováním nosní sliznice. Některé protimikrobní látky/antioxidanty také často zapříčiňují nosní podráždění, pokud jsou použity ve velkém množství. Intranasální vlhkost je nutná pro ochranu před dehydratací. Právě proto se do nosních přípravků na gelové bázi přidávají zvlhčovačla (glycerol, sorbitol a mannitol).<sup>4</sup> I přesto, že jsou některé pomocné látky zodpovědné za podráždění nosu, neočekává se, že by antioxidanty, protimikrobní látky, zvlhčovačla a ochucovací prostředky změnil vstřebávání nosních léčiv.<sup>1</sup>

### **5.4 Faktory ovlivňující depozici v nosní dutině**

Inhalované částice mohou být ukládány pěti mechanismy: zachycením, zaklíněním, sedimentací, difuzí, a elektrostatickými silami. Pouze tři z těchto mechanismů mají význam pro ukládání v nosní dutině: setrvačné zaklínění, gravitační sedimentace a Brownova difuze.<sup>13</sup>

Klíčovým faktorem nosního ukládání (depozice) léčiva je aerodynamický průměr částic. Částice o velikosti přibližně 0,5-1  $\mu\text{m}$  se usazují minimálně. Nad touto velikostí částic se ukládání zvyšuje v důsledku setrvačných sil, pod touto velikostí se rovněž zvyšuje, a to v důsledku turbulentní difuze.<sup>2</sup>

Setrvačné zaklínění, které je dominantní pro částice nad 0,5  $\mu\text{m}$ , je hlavním mechanismem ukládání v nose. Dochází k němu tehdy, jsou-li částičky těžké, velké nebo se rychle pohybují. Může se pak stát, že změní směr a narazí na stěnu dýchacích cest. Na ukládání mají hlavní vliv geometrie dýchacích cest, velikost inhalovaných částic a rychlost dýchání. S ohledem na nosní dávkovací přístroje se může aerodynamický průměr podávaných částic měnit. Kromě toho mají technické vlastnosti přístroje vliv na rychlost proudění částic, čímž je také možné ovlivnit depozici.<sup>2</sup>

V dýchacích cestách dochází k ukládání léčiva především díky gravitační sedimentaci<sup>14</sup>. Usazování částic pod vlivem gravitace zrychluje až do ustálené konečné usazovací rychlosti, při které je gravitační síla vyrovnána odporem vzduchu. Míra usazování je úměrná druhé mocnině průměru částic podle Stokesovy rovnice. Čím menší je částice, tím pomaleji sedimentuje. Ukládání gravitační sedimentací může být ovlivněno pouze změnou velikosti částic. Gravitační sedimentaci ovlivňuje také hustota látky, která je však pevně dána charakterem léčivé látky.<sup>14</sup>

Třetí ukládací mechanismus, Brownova difuze, je omezena na částice, jejichž průměr je menší než 0,5  $\mu\text{m}$ . S rostoucí difuzí a klesající rychlosti dýchání se ukládání zvyšuje.<sup>15</sup>

U některých zařízení (např. nosních kapek) je velmi důležitý směr během aplikace. Aplikace kapek v poloze na zádech se zakloněnou hlavou vede k rychlému odtoku přípravku do hltanu. Mygind a kol.<sup>16</sup> popsal správné používání nosních kapek. Aby bylo zajištěno dobré rozložení léčiva, navrhl podávat nosní kapky v poloze na zádech se zakloněnou hlavou. Po aplikaci by měla být hlava obrácena na pravou stranu, poté na levou stranu a opět do původní polohy předtím, než se zaujme znovu sedící poloha. Každá pozice by měla trvat 30 sekund. Touto technikou se dosáhne správné

distribuce přes celou nosní dutinu. Díky závislosti depozice nosních kapek na technice podávání je v současnosti upřednostňováno použití rozprašovačů.<sup>16</sup>

Dalším faktorem ovlivňující depozici je úhel sprejového kužele nosního adaptéru. Ten určuje šířku sprejového rozstříku a tím i depoziční oblast v nosní dutině. Změna úhlu z 60 na 35 nebo 30° má za následek větší ukládání v zadní oblasti a rychlejší clearance přípravku. Úhel kužele zařízení by tak měl být zvolen s ohledem na ukládací oblast.<sup>2</sup>

## **5.5 Dávkovací systémy pro nasalia**

### **5.5.1 Tekuté nosní přípravky**

Tekuté přípravky jsou pro nosní aplikaci nejčastěji používané. Výhodou při alergických a chronických onemocněních je jejich častý zvlhčující účinek. Jednou z hlavních nevýhod přípravků na vodní bázi je přítomnost protimikrobních látek, které mohou při dlouhodobé léčbě způsobovat podráždění a alergickou rýmu. Dalšími nevýhodami jsou snížená chemická stabilita rozpuštěné léčivé látky a krátká doba setrvání přípravku v nosní dutině. Místo a schéma uložení aplikovaných tekutých přípravků je závislé na dávkovacím zařízení, způsobu aplikace a fyzikálně chemických vlastnostech přípravku. Tekuté nosní přípravky – nosní kapky a tekuté nosní spreje - se aplikují pomocí následujících dávkovacích systémů.<sup>2</sup>

#### **5.5.1.1 Systémy pro kapky**

##### **Kapací lahvičky**

Kapací lahvičky jsou jedním z nejstarších dávkovacích systémů nosní aplikace. Z důvodu otevřené kapkovací nádoby, kvůli které jsou nutné protimikrobní látky, a aplikaci, jsou lahvičky stále častěji nahrazovány spreji nebo jednodávkovými obaly. Nevýhodou lahviček může být objem závislý na síle zmáčknutí a aplikace závislá na poloze hlavy.<sup>17</sup>

Rozlišujeme 4 druhy aplikačních poloh nosních kapek – poloha se zakloněnou hlavou (nejjednodušší, ale neúspěšná vzhledem k malému rozprostření přípravku do povrchu nosní sliznice), poloha se zakloněnou hlavou vleže (doporučovaná

některými výrobci), poloha s hlavou dolů a dopředu (ke kolenům) a konečně poloha laterální (na boku) s hlavou v nízké pozici (dolů opřenou např. o polštář). Přesto nejlepší poloha s ohledem na optimální lokalizaci dávky dosud chybí a zůstává zajímavým předmětem pro další zkoumání.<sup>17</sup>

### **Nosní katetry**

Použití katetru je snadným způsobem, jak podat kapky do určené oblasti v nosní dutině. Dávkování pomocí katetru je podmíněno plněním před podáním a přesností systému. Nosní ukládání a distribuce aplikovaného roztoku katetrem závisí na způsobu podání. Tento systém se používá pouze pro experimentální studie.<sup>2</sup>

### **Jednodávkové obaly („unit-dose containers“)**

Hlavní výhodou jednodávkových obalů v porovnání s ostatními přípravky na vodní bázi je nepřítomnost protimikrobních látek. Díky malé velikosti je lze snadněji přenášet a zlepšují tak komfort pacientů. Na rozdíl od vícedávkových nosních kapek, je celkový objem určen jednou dávkou. Dávkovací přesnost je závislá na přesnosti plnění a použití zařízení. Nejznámější formou je jednodávková pipeta, ze které se přípravek vytlačí v podobě kapky. Ukládání přípravku v nosní dutině je výsledkem aplikační techniky.<sup>2</sup>

Přesnost dávkování je vyšší než u vícedávkových kapek, ale nižší než u dávkovacího mechanického rozprašovače. To může být způsobeno např. nedostatkem tlaku. Přesnost dávkování může být zvýšena u druhé formy jednodávkového obalu, který má pohon s nosním adaptérem a malou komoru s pístem (Obr. 2). Podobná zařízení mohou také rozdělovat celkovou dávku na dvě poloviny a ty jsou pak podány do obou nosních dírek. Po aplikaci může zůstat v obalu nevyužito 10-30% objemu přípravku.<sup>2</sup> Snížené množství či úplné odstranění protimikrobních látek dosažené těmito obaly vyžaduje aseptické plnění, které je vhodné pouze pro drahé a citlivé léčivé látky.

Další variantou jsou dávkovací systémy tvořené malou skleněnou ampulkou, jejíž výhodou je lepší kompatibilita s léčivými látkami a možnost sterilizace v autoklávu.

Systém využívá přetlaku uvnitř obalu a setrvační síly, a proto je nezávislý na individuálním ručním ovládní, což zajistí vyšší dávkovací přesnost.<sup>2</sup>

### **5.5.1.2 Systémy pro spreje**

#### **Stlačitelné lahvičky („squeezed bottle“)**

Stlačitelné nosní lahvičky se používají zejména jako dávkovací zařízení pro léčiva zmírňující zduření nosní sliznice. Skládají se z plastové lahvičky s jednoduchou tryskou. Při stisknutí plastové láhve, je vzduch uvnitř nádoby vytlačován z malé trysky, čímž rozprašuje určitý objem. Po uvolnění tlaku se vzduch opět nasaje dovnitř láhve. Nevýhodou je, že tento postup často vede ke kontaminaci tekutiny mikroorganismy a nasátí nosního sekretu dovnitř.<sup>2</sup>

Přesnost dávkování a depozice tekutin v nosní dutině prostřednictvím stlačitelných lahviček jsou závislé na způsobu aplikace. Silně a slabě stlačená lahvička ovlivňuje jak dávku, tak velikost kapek. Vzhledem k tomu, že velikost dávky je těžce kontrolovatelná, nedoporučují se stlačené lahve obsahující léčiva proti nosní kongesci používat dětmi.<sup>2</sup>

#### **Dávkovací mechanické rozprašovače („metered-dose pump sprays“)**

Většina nosních přípravků obsahující roztoky, emulze nebo suspenze jsou podávány v dávkovacích mechanických rozprašovačích. Ve srovnání se stlačitelnými lahvičkami umožňují aplikaci přesně určené dávky s vysokou přesností dávkování a typickým rozprášením (viz. *spray diameter* v experimentální části práce). Standardně jsou k dispozici dávky o objemu mezi 25 a 200 µl.

Vlastnosti sprejů se liší podle prekompresního mechanismu, typu zvolené pumpy a ventilu a fyzikálních vlastností výrobku. Viskozita, tixotropní chování, elasticita a povrchové napětí kapaliny určují tvar rozprášení, velikost částic kapek, dávku a dávkovací přesnost.<sup>2</sup>

Mechanické dávkovací rozprašovače se skládají z nádobky, čerpadla s ventilem a aplikátoru. Podoba aplikátoru musí být přizpůsobena požadovanému použití. Délka aplikátoru má vliv na ukládání aplikované dávky do nosu. Na trhu jsou k dispozici

i speciální adaptéry pro děti. Z bezpečnostních důvodů bývá na aplikátor nasazeno víčko, aby se předešlo riziku vystříknutí tekutiny bez úmyslného stlačení, ke snížení mrtvého objemu v aplikátoru a ke snížení kontaminace.<sup>2</sup>

Geometrie a rozměry mechanického rozprašovače mohou být přizpůsobeny podávanému produktu s ohledem zejména na jeho rheologické chování, povrchové napětí a požadované vlastnosti spreje.<sup>2</sup>

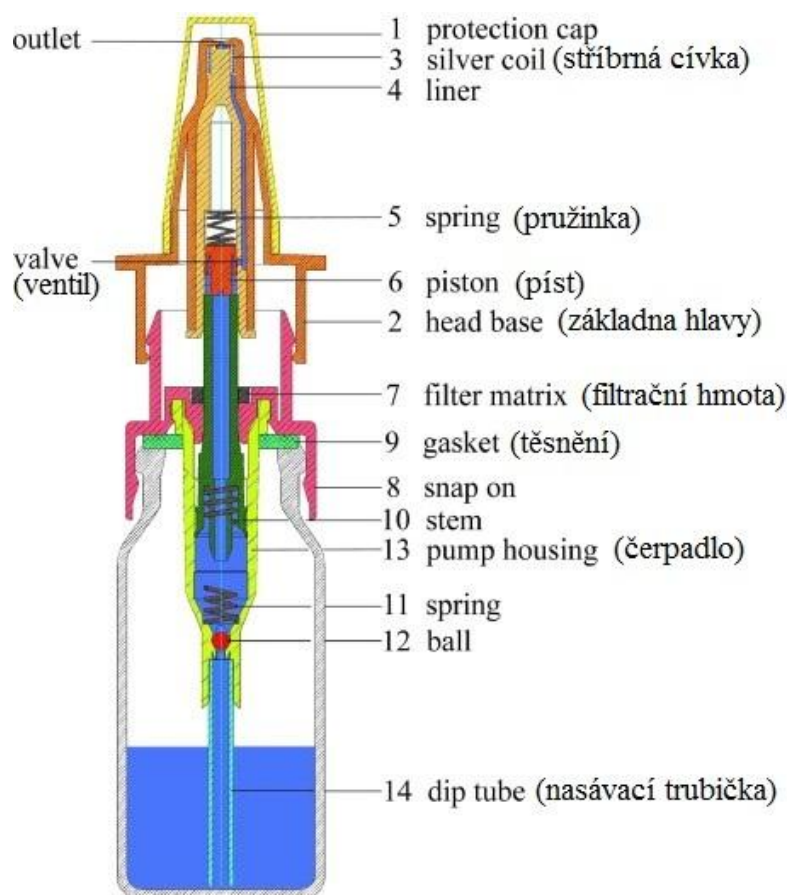
Speciální geometrie ústí určuje rozprášení a distribuci kapek. Úhel kužele se pohybuje mezi 35 a 90°. Malý úhel kužele vede více k zadnímu uložení léčiva v nosní dutině, zatímco větší úhel ukazuje širokou distribuci v přední části nosní dutiny. Lepší distribuci lze zajistit systémem s více kanálky v ústí nosního adaptéru, díky němuž je roztok stříkán v několika různých směrech. Dávkovací přesnost dávkovacích mechanických rozprašovačů je závislá na povrchovém napětí a viskozitě přípravku. Pro roztoky s vyšší viskozitou jsou na trhu speciální dávkovače.<sup>2</sup>

Existují také varianty se zabudovaným filtrem (Obr. 1), které umožňují využití přípravku bez protimikrobních látek. Speciální čerpadla brání vstupu vzduchu zpět do přístroje v průběhu výdeje léčiva.<sup>2</sup> Navíc se do těchto filtrů používají postříbřené komponenty, které brání kontaminaci při výstupu spreje.<sup>3</sup> Kromě snížení koncentrace protimikrobních látek a antioxidantů je hlavní výhodou těchto čerpadel jejich použití v jakékoliv poloze s neměnnou dávkovací přesností, což je užitečné zejména pro děti nebo pacienty upoutané na lůžko.<sup>2</sup>

Rozprašování se provádí buď pomocí mechanického rozprašovače nebo dávkovacího tlakového inhalátoru. Dávkovací tlakový inhalátor je tvořen obvykle hliníkovým obalem, který obsahuje hnací plyn (propelent) a jádro s léčivými a pomocnými látkami, dále ventilem, který tlakovku hermeticky uzavírá a rozprašovačem, jenž navazuje na ventil. Jako hnací plyn se používají chlorované fluorparafíny, fluorované uhlovodíky, dusík, oxid dusný a oxid uhličitý.<sup>2</sup>

U nosních sprejů se testuje sprejový rozstřík (*spray diameter*). Ten je důležitý pro posouzení výkonu čerpadla spreje. Faktory, které ovlivňují rozstřík a jeho geometrii, jsou např. velikost a tvar trysky, konstrukce čerpadla, velikost dávkovací komory

a vlastnosti přípravku. Při hodnocení rozstřiku by měla být specifikována vzdálenost mezi tryskou a nanášecím povrchem, počet stříknutí, poloha a orientace nanášecího povrchu vzhledem k trysce a postup pozorování. Kritéria přijatelnosti rozstřiku by měla zahrnovat tvar (např. elipsa o relativně rovnoměrné hustotě), stejně jako velikost rozstřiku (např. žádný průměr není větší než x mm a poměr nejdelšího a nejkratšího průměru by měl ležet ve stanoveném rozmezí).<sup>18</sup>



Obr. 1: Dávkovací mechanický rozprašovač s filtrem<sup>19</sup>

### 5.5.2 Práškové nosní přípravky

Suché prášky jsou v nosní aplikaci léčiv používány méně často. Hlavní výhodou této dávkovací formy je lepší stabilita přípravku a absence protimikrobních látek. Ve srovnání s roztoky, může podávání prášků vést k prodlouženému kontaktu s nosní



sliznicí. Bylo prokázáno Illum a kol.<sup>20</sup>, že malé objemy tekutých a práškových částic mají téměř stejnou rychlost MCC. Přidání bioadhezivních pomocných látek má za následek snížení frekvence pohybu řasinek a MCC a prodloužení doby působení v nosní dutině. Schipper a kol.<sup>21</sup> dokázal použitím dimethyl-b-cyklohexinu, že použití práškových přípravků zvyšuje biologickou dostupnost inzulínu ve srovnání s přípravky ve formě roztoku.

Velké objemy kapalných přípravků jsou snadněji unášeny do nosohltanu, odkud vstupují na zadní část jazyka. Proto podávání nosních prášků může zvýšit přijatelnost pacienty, zejména u dětí, pokud jsou vůně a chuť podávaného léčiva nepříjemné. Prášek umožňuje podání nejvyššího množství účinné látky bez nutnosti přítomnosti vehikula. Vhodnost práškových přípravků ve srovnání s kapalnými přípravky, je velmi závislá na rozpustnosti účinné látky, její míře absorpce, velikosti částic a potenciální dráždivosti. Aerodynamické vlastnosti prášku určují depozici v nosní dutině. Kromě toho velikost a tvar částic, hustota a vlastnosti toku mají vliv na distribuci v nose.<sup>2</sup>

### **5.5.2.1 Systémy pro prášky**

#### **Insuflátory**

Insuflátor je sestaven za použití trubičky, která obsahuje léčivou látku pro inhalaci. Je možná kombinace se stříkačkou, aby se směs vyfoukla do nosní díry. Dosažená velikost částic těchto systémů je často vyšší ve srovnání s velikostí prachových částic, a to z důvodu nedostatečné deagregace částic. Mnoho insuflátorů pracuje s předem odměřenými dávkami prášku v tobolkách. Použití želatinové tobolky umožňuje plnění a použití různých množství prášku.<sup>2</sup>

### **Jednodávkové práškové inhalátory**

Vysokou dávkovací přesnost pro intranazálně aplikované prášky zajišťuje použití jednodávkových zařízení, které se podobají malé jednodávkové stříkačce (Obr. 2). Velikost částic podaných prášků vyplývá z velikosti částic léčiva a z kvality deagregace prášku, který je určen způsobem stlačení.<sup>2</sup>

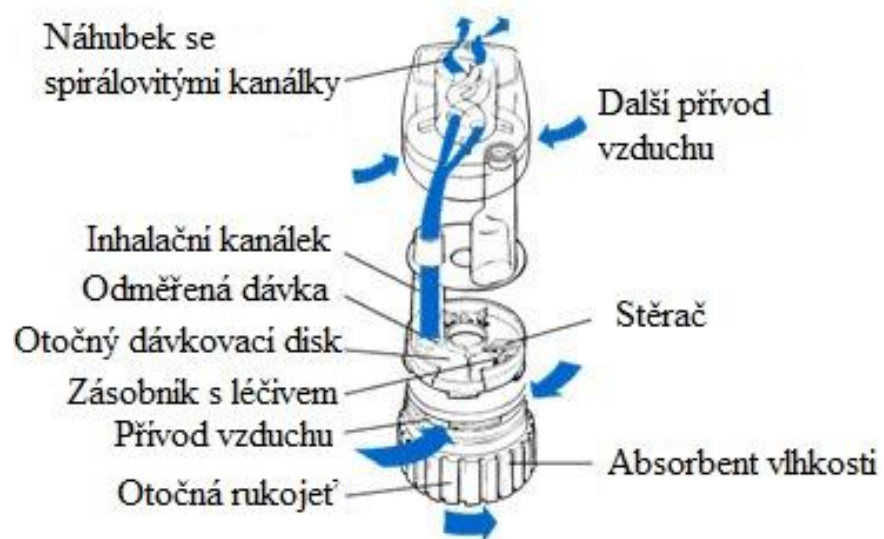
Tento přístroj umožňuje použití lyofilizovaného prášku, který může být lyofilizován přímo v zařízení. Stlačením pístu dojde k proražení membrány, která odděluje komoru s lyofilizovaným léčivem a stlačení vzduchu ve vnitřní komoře. Expandující vzduch pak vyfoukne látku do nosní dírky. Velikost částic podaného prášku a ukládání v nose je ovlivněna fyzikálními vlastnostmi lyofilizovaného prášku, podmínkami během lyofilizace a použité síle při kompresi zařízení.<sup>2</sup>



**Obr. 2: Jednodávkový systém pro prášky a pro tekutiny<sup>22</sup>**

### **Vícedávkové systémy pro prášky**

Pro dosažení vyšší přijatelnosti pacienty s nosním práškovým aplikátorem byly vyvinuty nové vícedávkové nosní práškové systémy (Obr. 3). První komerčně dostupný vícedávkový nosní práškový inhalátor aplikující lokální kortikosteroid budesonid byl úspěšně otestován. Druhým vícedávkovým práškovým zařízením, které bylo uvedeno na trh je Easyhaler.<sup>2</sup>



**Obr. 3: Vicedávkový systém pro prášky<sup>23</sup>**

## Experimentální část

### 5.6 Použité suroviny

Čištěná voda (Farmaceutická fakulta HK)

Ultračistá voda (Farmaceutická fakulta HK)

Registrovaný přípravek: Nasivin 0,05% nosní dávkovaný sprej, MERCK, Německo

Složení: oxymetazolini hydrochloridum 0,05 g ve 100 ml roztoku, monohydrát kyseliny citronové, dihydrát natrium-citrátu, glycerol 85%, roztok benzalkonium-chloridu 50%, čištěná voda

### 5.7 Použité přístroje

Analytické váhy Kern ABJ 120-4M, KERN & Sohn GmbH, Německo

Hustoměr DMA 4100 M, Anton Paar GmbH, Rakousko

Automatic Semi-micro osmometer, Knauer, Německo

Ubbelohdeho kapilární viskozimetr, Sklářny Kavalier, Česká republika

Traubeho stalagmometr

Digitální stopky DS 35, ZPA Pragotron, Česká republika

### 5.8 Použité metody

U registrovaného přípravku (RP) jsem změřila hustotu, osmolalitu, viskozitu a povrchové napětí.

#### 5.8.1 Měření hustoty

Hustotu registrovaného přípravku jsem měřila pomocí hustoměru DMA 4100 M (Anton Paar).

Po zapnutí přístroje se nejdříve provede propláchnutí celý 5 ml ultračisté vody bez bublin (odpěnění v ultrazvukové lázni) a spustí se kontrola hustoty vody při 20° C. Poté jsem celu naplnila cca 1 ml vzorku bez bublin a stisknutím tlačítka START jsem změřila hustotu při teplotě 20° C. Vzorek jsem při stejné teplotě změřila celkem 5x vždy s novým naplněním trubice. Následně jsem změnila teplotu na 25° C, měření

provedla opět 5x a hodnoty zaznamenala. Podobně jsem postupovala při teplotě 8° C. Po skončení měření jsem měřící celu propláchla čistou vodou, profoukla vzduchem, nechala vysušit a následně provedla kontrolu hustoty vzduchu. Vypočítala jsem průměrnou hustotu a směrodatnou odchylku. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 1.

### 5.8.2 Měření osmolality

Osmolalita se stanovuje měřením snížení teploty tuhnutí pomocí osmometru. Použila jsem osmometr typ automatický semi-micro osmometr, který se skládá ze zařízení pro chlazení nádoby pro měření, systému pro měření teploty a zařízení pro míchání vzorku.

Před vlastním měřením jsem provedla kalibraci přístroje pomocí porovnávacích roztoků, které jsem připravila podle pokynů v Českém lékopise<sup>24</sup>. Měřením těchto vodných roztoků chloridu sodného o osmolalitě 100, 200, 300, 400, 500, 600 a 700 mosmol/kg jsem získala kalibrační rovnici s koeficientem determinace  $R^2 = 0,9974$ , která se použije k výpočtu reálné osmolality.

$$y = 0,962798 x + 3,633333 \quad (1)$$

x je reálná hodnota (mosmol/kg), y je naměřená hodnota (mosmol/kg)

Při vlastním měření jsem nejdříve nastavila hodnotu 0 mosmol/kg tak, že jsem do měřící kyvety převedla 150 µl ultračisté vody. Následně jsem kyvetu vymyla a naplnila roztokem, který obsahoval 12,684 g chloridu sodného na 1 kg vody, abych nastavila hodnotu 400 mosmol/kg.

Kyvetu jsem několikrát vypláchla, vysušila a převedla do ní zkoušený vzorek. Zmáčknutím tlačítka START jsem změřila osmolalitu a vzorek proměřila celkem 5x. Pomocí kalibrační rovnice jsem vypočítala reálnou hodnotu osmolality a výsledky jsem zaznamenala do tabulky 1.

### 5.8.3 Měření viskozity

Ke stanovení kinematické viskozity v (mm<sup>2</sup>/s) jsem použila Ubbelohdeho kapilární viskozimetr. Viskozimetr jsem po odsátí čisté vody naplnila vzorkem pomocí hadičky a stříkačky po značku. Naplněný viskozimetr v kovovém stojanu jsem

umístila do vodní lázně a nechala 20 minut temperovat při teplotě  $25 \pm 0,5^\circ\text{C}$ . Po vytemperování vzorku jsem na konec trubice nasadila hadici, nejužší trubici ucpala prstem a vzorek bez vzduchových bublinek nasála nad značku. Následně jsem uvolnila otvory trubice a nechala vzorek volně stékat. Měřila jsem dobu průtoku  $t$  (s) mezi značkami. Vše jsem opakovala celkem 5x a výsledky zaznamenala. Z naměřených hodnot jsem vypočítala kinematickou viskozitu  $\nu$  ( $\text{mm}^2/\text{s}$ )<sup>25</sup>.

$$\nu = A \cdot t' \quad (2)$$

$$t' = t - B / A \cdot t \quad (3)$$

konstanta viskozimetru  $A = 0,002998 \text{ mm}^2/\text{s}^2$

konstanta B ke korekci na kinetickou energii  $= 2,38 \text{ mm}^2 \cdot \text{s}$

průměrný čas průtoku  $t = 335,78 \text{ s}$

$t'$  = aritmetický průměr průtokových dob korigovaný na kinetickou energii

Dynamickou viskozitu  $\eta$  ( $\text{Pa} \cdot \text{s}$ ) jsem vypočítala z kinematické viskozity  $\nu$  ( $\text{mm}^2/\text{s}$ ) a průměrné hustoty  $\rho$  ( $\text{g}/\text{cm}^3$ ) vzorku při  $25^\circ\text{C}$ .

$$\eta = \nu \cdot \rho \quad (4)$$

#### 5.8.4 Měření povrchového napětí

Povrchové napětí jsem určila pomocí Traubeho stalagmometru, což je tlustostěnná dole zabroušená kapilára. Měření spočívá ve stanovení počtu kapek, které se vytvoří z definovaného objemu kapaliny.

Do stalagmometru jsem nasála z kádinky čištěnou vodu a nechala volně odkapávat. Počítala jsem kapky vzniklé z objemu kapaliny vymezeného ryskami. Celkem 5x jsem stanovila počet kapek u čištěné vody a vypočítala průměr. Stejně jsem postupovala se vzorkem, který jsem změřila také 5x a vypočítala průměr. Měření jsem prováděla při teplotě  $25^\circ\text{C}$ .

Pomocí rovnice (5) jsem vypočítala povrchové napětí zkoušeného vzorku:

$$\sigma_T = (P_V \cdot \rho_T) / (P_T \cdot \rho_V) \cdot \sigma_V \quad (5)$$

kde  $\sigma_T$  je povrchové napětí vzorku,  $\sigma_V$  je povrchové napětí vody,  $P_T$  je počet kapek vzorku,  $P_V$  je počet kapek vody,  $\rho_T$  je hustota vzorku a  $\rho_V$  je hustota vody při  $25^\circ\text{C} = 0,9971 \text{ g}/\text{cm}^3$ . Výsledky jsou uvedeny v tabulce 1.

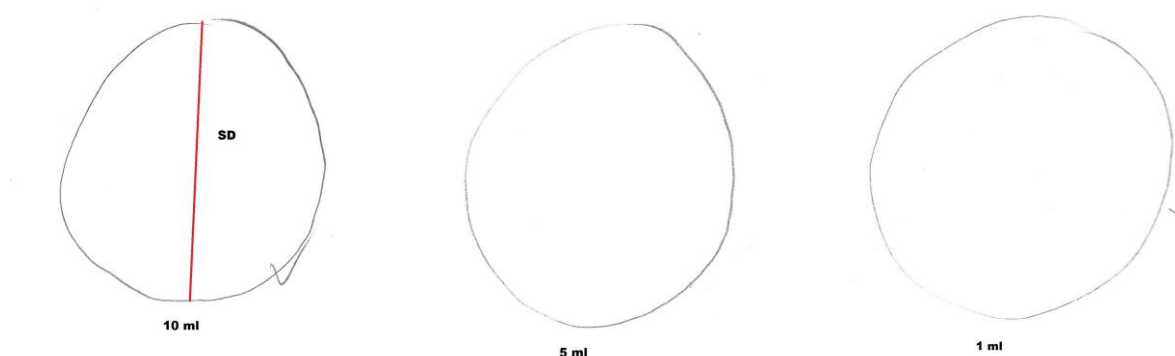
### 5.8.5 Rozprášení spreje

Pro hodnocení rozprášení spreje jsem použila pět náhodně vybraných obalů registrovaného přípravku (RP) ze stejné šarže.

Nejdříve jsem lahvičku natlakovala 5 násobným stiskem rozprašovače. Po dalších 2 odstříknutích jsem aplikovala přípravek na papír, který byl umístěn na stojanu ve vzdálenosti 5 cm nad ústím rozprašovače a zaznamenala jsem tužkou rozsah. Totéž jsem opakovala celkem 10x. Následně jsem změřila průměr kruhu (*spray diameter*, SD) vzniklého rozprášením přípravku. Výsledky jsem zaznamenala do tabulky 3.

Vliv objemu přípravku na *spray diameter* jsem sledovala tak, že jsem pro stanovení použila plné lahvičky (10 ml), poté jsem odstříkala potřebný počet dávek (cca 80), aby obsah přípravku v lahvičkách odpovídal objemu 5 ml a provedla opět 10 rozstříků. Po dalším odstříkání potřebného počtu dávek (cca 60) jsem provedla posledních 10 rozprášení s objemem 1 ml roztoku.

Určení SD ilustruje obrázek 4.



**Obr. 4:** Odečet *spray diameter* (SD)

Potom jsem opakovaným stiskem rozprašovače lahvičku vyprázdnila a zaznamenala celkový počet dávek v lahvičce. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 2. Vliv objemu lahvičky na *spray diameter* je zachycen na obrázku 5.

### 5.8.6 Stejnoměrnost dávkových jednotek

Stejnoměrnost dávkových jednotek jsem stanovila u nosního spreje registrovaného přípravku tří různých šarží. Postupovala jsem v souladu s pokyny ČL pro hodnocení dávkové stejnoměrnosti dávkovaných nosních sprejů povahy roztoku<sup>26</sup>.

Každou lahvičku jsem nejdříve natlakovala 7 násobným stiskem rozprašovače a zvážila na analytických vahách. Odstříkla jsem jednu dávku do odpadu a čekala nejméně 5 sekund. Poté jsem 5 sekund třepala a odstříkla další dávku. Tento postup jsem opakovala celkem 5x. Následně jsem opět zvážila lahvičku na analytických vahách, odstříkla jsem jednu dávku a obal opět zvážila. Z rozdílu hmotností jsem určila hmotnost 1 dávky. Postup jsem opakovala s dalšími devíti přípravky.

U deseti sprejů z každé ze sledovaných šarží jsem sledovala také stejnoměrnost dávkových jednotek v závislosti na objemu přípravku. Po stanovení hmotnosti 1 dávky výše uvedeným postupem jsem z přípravku dále odstříkávala vždy dvacet dávek a každou 21. následující dávku zvážila a určila její hmotnost. Tento postup jsem u každého spreje opakovala celkem osmkrát.

Vliv teploty uchovávání na stejnoměrnost dávkových jednotek jsem sledovala po dobu deseti dnů tak, že jsem přípravky uchovávala střídavě po dobu 24 hodin při pokojové teplotě ( $25 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ ) a v chladu při teplotě ( $8 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ ). Přitom jsem během manipulace s přípravky uchovávanými v chladu sprej držela za rozprašovač a hrdlo lahvičky, aby se neohříval obsah.

Výsledky jsem zaznamenala do tabulky 5 -7. Hodnoty jsou doplněny průměrem ( $\bar{x}$ ) a směrodatnou odchylkou (s). Vliv objemu přípravku na dávkovou stejnoměrnost ilustruje obrázek 7.

### 5.8.7 Zpracování výsledků

Pro přehlednost jsem v experimentální části použila následující kódy.

U měření *spray diameter* byl vytvořen kód kombinací zkratky registrovaný přípravek (RP), *spray diameter* (SD) a pořadového čísla přípravku, např. RPSD1.

Pro sledování vlivu teploty byl vytvořen kód v podobě:



registrovaný přípravek/šarže/den pokusu/teplota uchovávání/pořadové číslo přípravku .

Takže např. kód RP1D1R-1 znamená, že se jedná o registrovaný přípravek první šarže (RP1), měřený první den pokusu (D1), po uchovávání za pokojové teploty (R, room) a pořadové číslo (1-10). Pokud byly přípravky uchovávány v chladu, použila jsem písmeno C a kód jsem sestavila analogicky, např. RP1D2C-1.

Pro hodnocení vlivu teploty uchovávání a objemu přípravku na dávkovou stejnoměrnost nosního spreje jsem použila analýzu rozptylu (ANOVA), jejíž výsledky jsou uvedeny v tabulce 4 a 18.

V souladu s pokyny ČL2009, článek Nasalia, jsem hodnotila hmotnostní stejnoměrnost sprejů povahy roztoků a dávkovou stejnoměrnost (2.9.40).<sup>26</sup>

Hmotnostní stejnoměrnost jsem zjistila tak, že jsem z deseti zvážených dávek v mg nejdříve vypočítala průměr a následně jsem vypočítala procentuální odchylku jednotlivých dávek od průměru. Výsledky jsem zaznamenala do tabulek 8-17 a vyznačila hodnoty přesahující limit 25%.

Dávkovou stejnoměrnost jsem hodnotila podle pokynů ČL (2.9.40) tak, že jsem vypočítala hmotnostní proměnlivost dávky (%T) a AV (*acceptance value*).

Postupovala jsem tak, že jsem z hmotnosti jednotlivé dávky pomocí hustoty vypočítala odpovídající objem dávky a určila obsah léčivé látky v µg. Poté jsem vypočítala průměr (µg) a směrodatnou odchylku.

K určení hmotnostní proměnlivosti (%T) pro jednotlivé obsahy v µg jsem využila cílovou dávku udávanou výrobcem, která je T = 22,5 µg (tedy 100%).

Hodnotu přijatelnosti AV (*acceptance value*) jsem vypočítala pomocí vzorce<sup>26</sup>

$$AV = |M - \phi| + k \cdot s \quad (6)$$

kde  $\phi$  je průměr obsahů v µg vztažených na objem dávky, s je směrodatná odchylka, k je konstanta přijatelnosti (pro n=10 je 2,4) a hodnota M je referenční hodnota závislá na hmotnostní proměnlivosti (%T):

- T leží mezi 98,5 - 101,5 %, pak  $M = \phi$

$$AV = 0 + k \cdot s$$

- $T < 98,5 \text{ \%}$ , pak  $M = 98,5 \text{ \%}$

$$AV = (98,5 \text{ \%} - \emptyset) + k \cdot s$$

- $T > 101,5 \text{ \%}$ , pak  $M = 101,5\%$

$$AV = (\emptyset - 101,5\%) + k \cdot s$$

Výsledky jsou shrnuty v tabulce 19-20.

## 6 Výsledky

**Tabulka 1: Fyzikálně-chemické vlastnosti registrovaného přípravku**

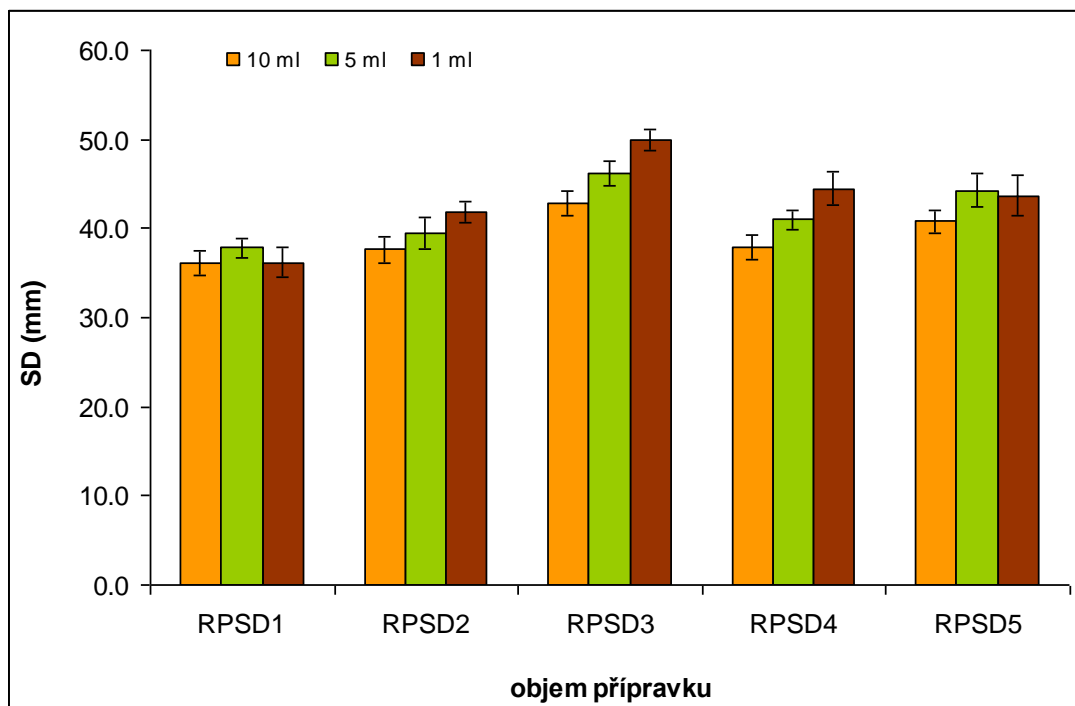
|                       |                           |
|-----------------------|---------------------------|
| Hustota při 8° C      | 1,0078 g/cm <sup>3</sup>  |
| Hustota při 20° C     | 1,0059 g/cm <sup>3</sup>  |
| Hustota při 25° C     | 1,0046 g/cm <sup>3</sup>  |
| Osmolalita            | 296,0 mosmol/kg           |
| Kinematická viskozita | 0,9996 mm <sup>2</sup> /s |
| Dynamická viskozita   | 1,0042 mPa·s              |
| Povrchové napětí      | 55,3 mN/m                 |

**Tabulka 2: Celkový počet dávek registrovaného přípravku v obalu**

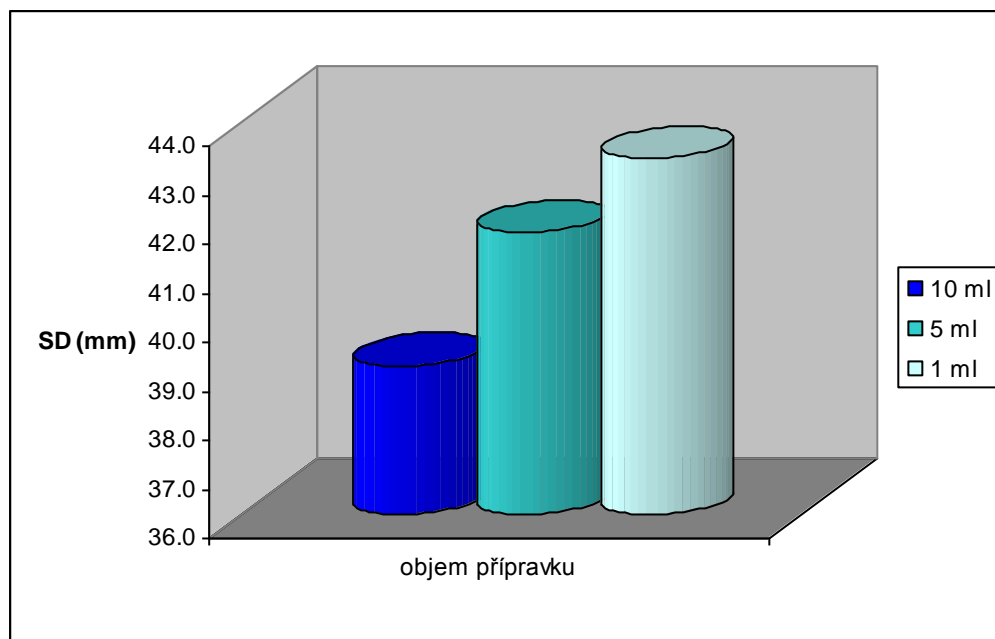
| RP  | počet dávek |     |     |     |     | průměr | s    |
|-----|-------------|-----|-----|-----|-----|--------|------|
| RP1 | 174         | 184 | 181 | 190 | 173 | 180,4  | 7,09 |
| RP2 | 169         | 182 | 166 | 185 | 180 | 176,4  | 8,38 |
| RP3 | 175         | 154 | 168 | 163 | 172 | 166,4  | 8,26 |

**Tabulka 3: Vliv objemu přípravku na *spray diameter* (mm)**

|          | RPSD-1      |             |             | RPSD-2      |             |             | RPSD-3      |             |             | RPSD-4      |             |             | RPSD-5      |             |             |
|----------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
|          | 10 ml       | 5 ml        | 1 ml        | 10 ml       | 5 ml        | 1 ml        | 10 ml       | 5 ml        | 1 ml        | 10 ml       | 5 ml        | 1 ml        | 10 ml       | 5 ml        | 1 ml        |
|          | 38,0        | 37,0        | 33,0        | 37,0        | 40,0        | 42,0        | 42,0        | 44,0        | 48,0        | 38,0        | 42,0        | 44,0        | 41,0        | 41,0        | 41,0        |
|          | 34,0        | 38,0        | 35,0        | 36,0        | 38,0        | 41,0        | 44,0        | 46,0        | 49,0        | 39,0        | 41,0        | 42,0        | 42,0        | 45,0        | 45,0        |
|          | 37,0        | 37,0        | 35,0        | 35,0        | 37,0        | 43,0        | 42,0        | 45,0        | 50,0        | 38,0        | 40,0        | 44,0        | 39,0        | 45,0        | 44,0        |
|          | 38,0        | 39,0        | 38,0        | 39,0        | 40,0        | 41,0        | 41,0        | 46,0        | 51,0        | 37,0        | 42,0        | 43,0        | 40,0        | 43,0        | 41,0        |
|          | 36,0        | 38,0        | 35,0        | 36,0        | 40,0        | 43,0        | 43,0        | 45,0        | 52,0        | 38,0        | 40,0        | 46,0        | 43,0        | 44,0        | 41,0        |
|          | 37,0        | 39,0        | 36,0        | 39,0        | 41,0        | 44,0        | 44,0        | 47,0        | 49,0        | 37,0        | 41,0        | 45,0        | 39,0        | 42,0        | 44,0        |
|          | 34,0        | 39,0        | 37,0        | 38,0        | 37,0        | 42,0        | 45,0        | 48,0        | 51,0        | 40,0        | 42,0        | 45,0        | 41,0        | 45,0        | 45,0        |
|          | 36,0        | 38,0        | 38,0        | 40,0        | 41,0        | 42,0        | 42,0        | 46,0        | 50,0        | 36,0        | 39,0        | 47,0        | 42,0        | 47,0        | 43,0        |
|          | 35,0        | 37,0        | 37,0        | 38,0        | 38,0        | 41,0        | 41,0        | 48,0        | 50,0        | 40,0        | 41,0        | 47,0        | 41,0        | 46,0        | 45,0        |
|          | 36,0        | 36,0        | 38,0        | 38,0        | 42,0        | 40,0        | 44,0        | 47,0        | 50,0        | 36,0        | 42,0        | 42,0        | 40,0        | 45,0        | 48,0        |
| <b>Ø</b> | <b>36,1</b> | <b>37,8</b> | <b>36,2</b> | <b>37,6</b> | <b>39,4</b> | <b>41,9</b> | <b>42,8</b> | <b>46,2</b> | <b>50,0</b> | <b>37,9</b> | <b>41,0</b> | <b>44,5</b> | <b>40,8</b> | <b>44,3</b> | <b>43,7</b> |
| <b>s</b> | 1,45        | 1,03        | 1,69        | 1,58        | 1,78        | 1,20        | 1,40        | 1,32        | 1,15        | 1,45        | 1,05        | 1,84        | 1,32        | 1,83        | 2,26        |



Obr. 5: Vliv objemu registrovaného přípravku na *spray diameter*



Obr. 6: Vliv zbytkového objemu 10 ml, 5 ml a 1 ml na průměrné *SD* pro 5 hodnocených RP

**Tabulka 4: Výsledky analýzy rozptylu (ANOVA) pro hodnocení vlivu objemu na *spray diameter***

| Zdroj variability | SS      | Rozdíl | MS     | F     | Hodnota P   | F krit |
|-------------------|---------|--------|--------|-------|-------------|--------|
| Mezi výběry       | 456,81  | 2      | 228.41 | 16.18 | $\leq 0,01$ | 3.06   |
| Všechny výběry    | 2075,16 | 147    | 14.12  |       |             |        |
| Celkem            | 2531,97 | 149    |        |       |             |        |

**Tabulka 5: Vliv objemu přípravku na hmotnost dávky (mg) RP1**

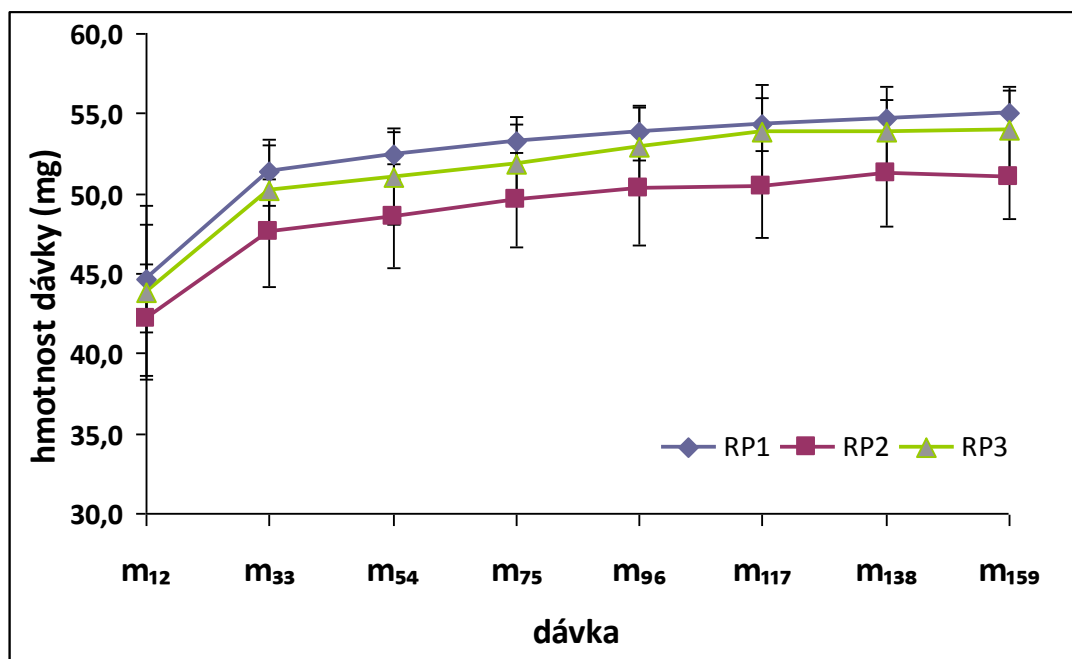
| RP                 | m <sub>12</sub> | m <sub>33</sub> | m <sub>54</sub> | m <sub>75</sub> | m <sub>96</sub> | m <sub>117</sub> | m <sub>138</sub> | m <sub>159</sub> |
|--------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|------------------|
| RP1-1              | 41,9            | 48,3            | 50,3            | 51,4            | 51,5            | 51,5             | 52,3             | 51,8             |
| RP1-2              | 47,1            | 52,9            | 54,0            | 55,1            | 54,2            | 54,8             | 54,4             | 54,3             |
| RP1-3              | 48,8            | 51,9            | 53,5            | 53,4            | 53,9            | 54,1             | 54,7             | 55,2             |
| RP1-4              | 42,0            | 49,4            | 50,2            | 50,9            | 50,5            | 51,6             | 54,5             | 53,6             |
| RP1-5              | 46,6            | 53,0            | 52,7            | 53,8            | 54,6            | 55,6             | 55,0             | 55,8             |
| RP1-6              | 46,4            | 53,0            | 53,7            | 54,1            | 55,0            | 55,0             | 55,4             | 55,9             |
| RP1-7              | 43,3            | 51,2            | 53,5            | 54,5            | 54,6            | 54,3             | 54,3             | 55,4             |
| RP1-8              | 40,0            | 50,8            | 51,7            | 52,6            | 53,0            | 54,0             | 53,8             | 54,9             |
| RP1-9              | 49,6            | 54,2            | 54,5            | 55,1            | 55,7            | 56,7             | 56,8             | 57,2             |
| RP1-10             | 41,2            | 48,5            | 50,9            | 51,4            | 55,0            | 55,5             | 55,6             | 56,0             |
| <b>průměr (mg)</b> | <b>44,7</b>     | <b>51,3</b>     | <b>52,5</b>     | <b>53,2</b>     | <b>53,8</b>     | <b>54,3</b>      | <b>54,7</b>      | <b>55,0</b>      |
| <b>s</b>           | <b>3,41</b>     | <b>2,05</b>     | <b>1,60</b>     | <b>1,57</b>     | <b>1,66</b>     | <b>1,66</b>      | <b>1,19</b>      | <b>1,50</b>      |

**Tabulka 6: Vliv objemu přípravku na hmotnost dávky (mg) RP2**

| <b>RP</b>          | <b>m<sub>12</sub></b> | <b>m<sub>33</sub></b> | <b>m<sub>54</sub></b> | <b>m<sub>75</sub></b> | <b>m<sub>96</sub></b> | <b>m<sub>117</sub></b> | <b>m<sub>138</sub></b> | <b>m<sub>159</sub></b> |
|--------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| RP2-1              | 40,0                  | 44,9                  | 44,3                  | 47,1                  | 47,1                  | 48,2                   | 47,9                   | 48,1                   |
| RP2-2              | 43,6                  | 49,6                  | 50,5                  | 51,3                  | 52,6                  | 52,4                   | 54,9                   | 53,2                   |
| RP2-3              | 44,3                  | 50,0                  | 51,0                  | 51,2                  | 49,9                  | 51,7                   | 52,3                   | 52,0                   |
| RP2-4              | 36,9                  | 41,9                  | 44,5                  | 44,5                  | 45,1                  | 44,8                   | 46,5                   | 48,0                   |
| RP2-5              | 45,3                  | 51,0                  | 52,8                  | 54,1                  | 55,7                  | 55,2                   | 55,0                   | 55,1                   |
| RP2-6              | 40,2                  | 47,1                  | 47,7                  | 47,4                  | 51,5                  | 52,0                   | 52,3                   | 52,8                   |
| RP2-7              | 43,7                  | 48,6                  | 49,1                  | 49,9                  | 50,4                  | 50,2                   | 51,4                   | 51,1                   |
| RP2-8              | 38,3                  | 43,7                  | 44,6                  | 48,3                  | 46,1                  | 46,7                   | 46,9                   | 47,4                   |
| RP2-9              | 48,1                  | 52,4                  | 52,7                  | 53,1                  | 54,9                  | 53,3                   | 55,3                   | 53,5                   |
| RP2-10             | 40,8                  | 46,4                  | 48,5                  | 49,4                  | 49,4                  | 49,5                   | 50,0                   | 49,5                   |
| <b>průměr (mg)</b> | <b>42,1</b>           | <b>47,6</b>           | <b>48,6</b>           | <b>49,6</b>           | <b>50,3</b>           | <b>50,4</b>            | <b>51,3</b>            | <b>51,1</b>            |
| <b>s</b>           | <b>3,45</b>           | <b>3,37</b>           | <b>3,27</b>           | <b>2,92</b>           | <b>3,54</b>           | <b>3,17</b>            | <b>3,34</b>            | <b>2,68</b>            |

**Tabulka 7: Vliv objemu přípravku na hmotnost dávky (mg) RP3**

| <b>RP</b>          | <b>m<sub>12</sub></b> | <b>m<sub>33</sub></b> | <b>m<sub>54</sub></b> | <b>m<sub>75</sub></b> | <b>m<sub>96</sub></b> | <b>m<sub>117</sub></b> | <b>m<sub>138</sub></b> | <b>m<sub>159</sub></b> |
|--------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| RP3-1              | 46,0                  | 53,2                  | 54,6                  | 55,3                  | 55,8                  | 55,5                   | 56,9                   | 56,6                   |
| RP3-2              | 41,7                  | 50,1                  | 51,7                  | 51,2                  | 54,3                  | 57,9                   | 55,2                   | 56,0                   |
| RP3-3              | 52,3                  | 53,2                  | 53,7                  | 54,6                  | 54,6                  | 54,5                   | 55,0                   | 54,8                   |
| RP3-4              | 43,2                  | 48,8                  | 49,8                  | 50,2                  | 51,4                  | 50,6                   | 50,9                   | 51,9                   |
| RP3-5              | 39,8                  | 49,7                  | 46,8                  | 51,3                  | 51,9                  | 51,7                   | 51,9                   | 52,1                   |
| RP3-6              | 41,7                  | 48,8                  | 49,6                  | 49,9                  | 52,7                  | 54,2                   | 54,6                   | 54,2                   |
| RP3-7              | 37,2                  | 45,6                  | 47,1                  | 48,2                  | 48,0                  | 50,3                   | 50,0                   | 50,3                   |
| RP3-8              | 39,4                  | 48,1                  | 50,4                  | 50,2                  | 51,4                  | 51,9                   | 53,4                   | 52,2                   |
| RP3-9              | 53,8                  | 55,1                  | 55,2                  | 55,8                  | 56,3                  | 59,1                   | 59,0                   | 59,3                   |
| RP3-10             | 43,4                  | 49,9                  | 50,8                  | 51,5                  | 52,5                  | 52,9                   | 52,2                   | 52,9                   |
| <b>průměr (mg)</b> | <b>43,9</b>           | <b>50,3</b>           | <b>51,0</b>           | <b>51,8</b>           | <b>52,9</b>           | <b>53,9</b>            | <b>53,9</b>            | <b>54,0</b>            |
| <b>s</b>           | <b>5,43</b>           | <b>2,82</b>           | <b>2,89</b>           | <b>2,55</b>           | <b>2,46</b>           | <b>2,98</b>            | <b>2,78</b>            | <b>2,70</b>            |



Obr. 7: Vliv objemu přípravku na dávkovou stejnoměrnost

Tabulka 8: Vliv teploty uchovávání na hmotnostní stejnoměrnost - D1R

| pořadí | RP1       |      |          | RP2       |      |          | RP3       |      |          |
|--------|-----------|------|----------|-----------|------|----------|-----------|------|----------|
|        | m<br>(mg) | Ø    | s<br>(%) | m<br>(mg) | Ø    | s<br>(%) | m<br>(mg) | Ø    | s<br>(%) |
| 1      | 41,9      | 44,7 | -6,24    | 40,0      | 42,1 | -5,03    | 46,0      | 43,9 | 4,90     |
| 2      | 47,1      |      | 5,39     | 43,6      |      | 3,51     | 41,7      |      | -4,90    |
| 3      | 48,8      |      | 9,20     | 44,3      |      | 5,18     | 52,3      |      | 19,27    |
| 4      | 42,0      |      | -6,02    | 36,9      |      | -12,39   | 43,2      |      | -1,48    |
| 5      | 46,6      |      | 4,27     | 45,3      |      | 7,55     | 39,8      |      | -9,24    |
| 6      | 46,4      |      | 3,83     | 40,2      |      | -4,56    | 41,7      |      | -4,90    |
| 7      | 43,3      |      | -3,11    | 43,7      |      | 3,75     | 37,2      |      | -15,17   |
| 8      | 40,0      |      | -10,49   | 38,3      |      | -9,07    | 39,4      |      | -10,15   |
| 9      | 49,6      |      | 10,99    | 48,1      |      | 14,20    | 53,8      |      | 22,69    |
| 10     | 41,2      |      | -7,81    | 40,8      |      | -3,13    | 43,4      |      | -1,03    |



**Tabulka 9: Vliv teploty uchovávání na hmotnostní stejnoměrnost - D2C**

| pořadí | RP1       |      |        | RP2       |      |        | RP3       |      |          |
|--------|-----------|------|--------|-----------|------|--------|-----------|------|----------|
|        | m<br>(mg) | Ø    | s (%)  | m<br>(mg) | Ø    | s (%)  | m<br>(mg) | Ø    | s<br>(%) |
| 1      | 49,4      | 45,3 | 8,95   | 48,4      | 43,0 | 12,61  | 43,6      | 46,7 | -6,62    |
| 2      | 41,0      |      | -9,57  | 42,3      |      | -1,58  | 50,5      |      | 8,16     |
| 3      | 37,8      |      | -16,63 | 42,9      |      | -0,19  | 40,3      |      | -13,69   |
| 4      | 48,6      |      | 7,19   | 34,5      |      | -19,73 | 45,7      |      | -2,12    |
| 5      | 41,6      |      | -8,25  | 46,2      |      | 7,49   | 47,3      |      | 1,31     |
| 6      | 45,9      |      | 1,24   | 43,2      |      | 0,51   | 43,4      |      | -7,05    |
| 7      | 47,6      |      | 4,98   | 41,2      |      | -4,14  | 48,5      |      | 3,88     |
| 8      | 52,3      |      | 15,35  | 42,1      |      | -2,05  | 52,3      |      | 12,02    |
| 9      | 45,2      |      | -0,31  | 50,1      |      | 16,57  | 49,5      |      | 6,02     |
| 10     | 44,0      |      | -2,96  | 38,9      |      | -9,49  | 45,8      |      | -1,91    |

**Tabulka 10: Vliv teploty uchovávání na hmotnostní stejnoměrnost - D3R**

| pořadí | RP1       |      |          | RP2       |      |          | RP3       |      |              |
|--------|-----------|------|----------|-----------|------|----------|-----------|------|--------------|
|        | m<br>(mg) | Ø    | s<br>(%) | m<br>(mg) | Ø    | s<br>(%) | m<br>(mg) | Ø    | s<br>(%)     |
| 1      | 45,6      | 44,4 | 2,63     | 42,3      | 46,2 | -8,52    | 49,6      | 45,1 | 9,95         |
| 2      | 45,4      |      | 2,18     | 44,9      |      | -2,90    | 44,6      |      | -1,13        |
| 3      | 45,7      |      | 2,86     | 51,8      |      | 12,02    | 56,0      |      | 24,14        |
| 4      | 38,3      |      | -13,80   | 45,9      |      | -0,74    | 38,1      |      | -15,54       |
| 5      | 43,3      |      | -2,54    | 49,6      |      | 7,27     | 38,5      |      | -14,65       |
| 6      | 44,3      |      | -0,29    | 48,6      |      | 5,10     | 43,1      |      | -4,46        |
| 7      | 45,6      |      | 2,63     | 43,7      |      | -5,49    | 39,6      |      | -12,21       |
| 8      | 45,0      |      | 1,28     | 43,5      |      | -5,93    | 41,5      |      | -8,00        |
| 9      | 43,4      |      | -2,32    | 43,6      |      | -5,71    | 43,6      |      | -3,35        |
| 10     | 47,7      |      | 7,36     | 48,5      |      | 4,89     | 56,5      |      | <b>25,25</b> |

**Tabulka 11: Vliv teploty uchovávání na hmotnostní stejnoměrnost - D4C**

| pořadí | RP1       |      |          | RP2       |      |          | RP3       |      |          |
|--------|-----------|------|----------|-----------|------|----------|-----------|------|----------|
|        | m<br>(mg) | Ø    | s<br>(%) | m<br>(mg) | Ø    | s<br>(%) | m<br>(mg) | Ø    | s<br>(%) |
| 1      | 47,5      | 45,9 | 3,49     | 46,8      | 44,0 | 6,41     | 46,2      | 42,4 | 8,99     |
| 2      | 43,3      |      | -5,66    | 41,3      |      | -6,09    | 44,7      |      | 5,45     |
| 3      | 47,3      |      | 3,05     | 42,3      |      | -3,82    | 44,7      |      | 5,45     |
| 4      | 50,5      |      | 10,02    | 44,0      |      | 0,05     | 44,5      |      | 4,98     |
| 5      | 44,9      |      | -2,18    | 47,4      |      | 7,78     | 33,0      |      | -22,15   |
| 6      | 45,4      |      | -1,09    | 46,4      |      | 5,50     | 43,3      |      | 2,15     |
| 7      | 46,3      |      | 0,87     | 41,8      |      | -4,96    | 45,2      |      | 6,63     |
| 8      | 49,1      |      | 6,97     | 45,9      |      | 4,37     | 35,2      |      | -16,96   |
| 9      | 44,2      |      | -3,70    | 45,7      |      | 3,91     | 39,1      |      | -7,76    |
| 10     | 40,5      |      | -11,76   | 38,2      |      | -13,14   | 48,0      |      | 13,23    |

**Tabulka 12: Vliv teploty uchovávání na hmotnostní stejnoměrnost - D5R**

| pořadí | RP1       |      |          | RP2       |      |              | RP3       |      |          |
|--------|-----------|------|----------|-----------|------|--------------|-----------|------|----------|
|        | m<br>(mg) | Ø    | s<br>(%) | m<br>(mg) | Ø    | s<br>(%)     | m<br>(mg) | Ø    | s<br>(%) |
| 1      | 49,7      | 44,1 | 12,70    | 41,8      | 42,8 | -2,27        | 45,0      | 47,9 | -6,09    |
| 2      | 40,6      |      | -7,94    | 41,7      |      | -2,50        | 52,5      |      | 9,56     |
| 3      | 42,7      |      | -3,17    | 54,5      |      | <b>27,43</b> | 53,7      |      | 12,06    |
| 4      | 41,7      |      | -5,44    | 39,1      |      | -8,58        | 53,6      |      | 11,85    |
| 5      | 46,2      |      | 4,76     | 50,6      |      | 18,31        | 42,3      |      | -11,73   |
| 6      | 44,7      |      | 1,36     | 43,3      |      | 1,24         | 44,6      |      | -6,93    |
| 7      | 40,8      |      | -7,48    | 38,5      |      | -9,98        | 47,1      |      | -1,71    |
| 8      | 39,4      |      | -10,66   | 33,0      |      | -22,84       | 51,6      |      | 7,68     |
| 9      | 50,0      |      | 13,38    | 41,6      |      | -2,74        | 43,7      |      | -8,81    |
| 10     | 45,2      |      | 2,49     | 43,6      |      | 1,94         | 45,1      |      | -5,88    |

**Tabulka 13: Vliv teploty uchovávání na hmotnostní stejnoměrnost - D6C**

| pořadí | RP1       |      |          | RP2       |      |          | RP3       |      |          |
|--------|-----------|------|----------|-----------|------|----------|-----------|------|----------|
|        | m<br>(mg) | Ø    | s<br>(%) | m<br>(mg) | Ø    | s<br>(%) | m<br>(mg) | Ø    | s<br>(%) |
| 1      | 42,9      | 45,5 | -5,67    | 44,2      | 45,8 | -3,43    | 46,2      | 45,3 | 1,96     |
| 2      | 47,5      |      | 4,44     | 43,0      |      | -6,05    | 45,3      |      | -0,02    |
| 3      | 48,7      |      | 7,08     | 47,7      |      | 4,22     | 43,5      |      | -3,99    |
| 4      | 46,7      |      | 2,68     | 42,2      |      | -7,80    | 47,5      |      | 4,83     |
| 5      | 50,2      |      | 10,38    | 41,1      |      | -10,20   | 50,8      |      | 12,12    |
| 6      | 42,7      |      | -6,11    | 52,1      |      | 13,83    | 47,3      |      | 4,39     |
| 7      | 49,7      |      | 9,28     | 43,4      |      | -5,18    | 42,3      |      | -6,64    |
| 8      | 35,0      |      | -23,04   | 51,7      |      | 12,96    | 46,5      |      | 2,63     |
| 9      | 43,1      |      | -5,23    | 39,8      |      | -13,04   | 44,1      |      | -2,67    |
| 10     | 48,3      |      | 6,20     | 52,5      |      | 14,70    | 39,6      |      | -12,60   |

**Tabulka 14: Vliv teploty uchovávání na hmotnostní stejnoměrnost - D7R**

| pořadí | RP1       |      |          | RP2       |      |          | RP3       |      |          |
|--------|-----------|------|----------|-----------|------|----------|-----------|------|----------|
|        | m<br>(mg) | Ø    | s<br>(%) | m<br>(mg) | Ø    | s<br>(%) | m<br>(mg) | Ø    | s<br>(%) |
| 1      | 48,1      | 44,8 | 7,46     | 46,0      | 48,2 | -4,56    | 48,0      | 45,2 | 6,15     |
| 2      | 41,4      |      | -7,51    | 48,9      |      | 1,45     | 38,8      |      | -14,20   |
| 3      | 44,8      |      | 0,09     | 47,5      |      | -1,45    | 43,3      |      | -4,25    |
| 4      | 47,8      |      | 6,79     | 47,6      |      | -1,24    | 47,2      |      | 4,38     |
| 5      | 39,4      |      | -11,97   | 52,0      |      | 7,88     | 47,6      |      | 5,26     |
| 6      | 49,8      |      | 11,26    | 49,0      |      | 1,66     | 49,9      |      | 10,35    |
| 7      | 44,9      |      | 0,31     | 44,3      |      | -8,09    | 47,5      |      | 5,04     |
| 8      | 46,4      |      | 3,66     | 46,0      |      | -4,56    | 42,2      |      | -6,68    |
| 9      | 43,9      |      | -1,92    | 45,5      |      | -5,60    | 43,7      |      | -3,36    |
| 10     | 41,1      |      | -8,18    | 55,2      |      | 14,52    | 44,0      |      | -2,70    |

**Tabulka 15: Vliv teploty uchovávání na hmotnostní stejnoměrnost - D8C**

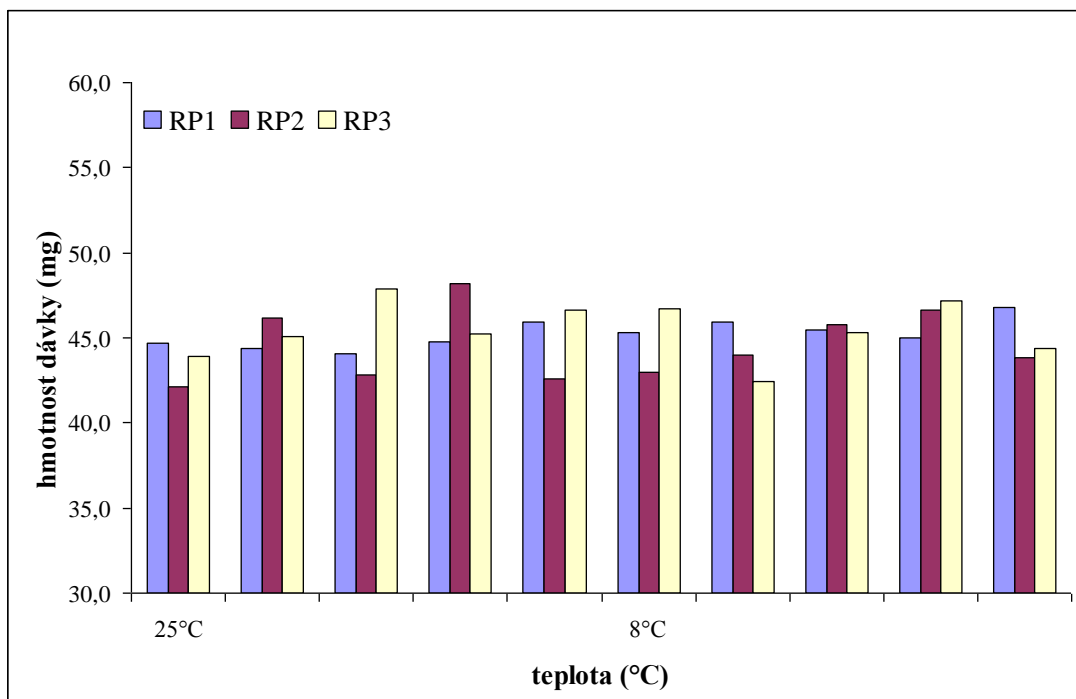
| pořadí | RP1       |      |          | RP2       |      |          | RP3       |      |          |
|--------|-----------|------|----------|-----------|------|----------|-----------|------|----------|
|        | m<br>(mg) | Ø    | s<br>(%) | m<br>(mg) | Ø    | s<br>(%) | m<br>(mg) | Ø    | s<br>(%) |
| 1      | 45,7      | 45,0 | 1,62     | 41,4      | 46,6 | -11,08   | 46,6      | 47,2 | -1,31    |
| 2      | 49,0      |      | 8,96     | 41,6      |      | -10,65   | 46,8      |      | -0,89    |
| 3      | 49,3      |      | 9,63     | 49,8      |      | 6,96     | 41,5      |      | -12,11   |
| 4      | 46,6      |      | 3,62     | 47,7      |      | 2,45     | 49,4      |      | 4,62     |
| 5      | 37,1      |      | -17,50   | 47,0      |      | 0,95     | 45,3      |      | -4,07    |
| 6      | 45,8      |      | 1,85     | 46,1      |      | -0,99    | 51,6      |      | 9,28     |
| 7      | 37,5      |      | -16,61   | 52,2      |      | 12,11    | 44,0      |      | -6,82    |
| 8      | 43,5      |      | -3,27    | 47,0      |      | 0,95     | 48,3      |      | 2,29     |
| 9      | 52,6      |      | 16,97    | 44,3      |      | -4,85    | 52,9      |      | 12,03    |
| 10     | 42,6      |      | -5,27    | 48,5      |      | 4,17     | 45,8      |      | -3,01    |

**Tabulka 16: Vliv teploty uchovávání na hmotnostní stejnoměrnost - D9R**

| pořadí | RP1       |      |          | RP2       |      |          | RP3       |      |          |
|--------|-----------|------|----------|-----------|------|----------|-----------|------|----------|
|        | m<br>(mg) | Ø    | s<br>(%) | m<br>(mg) | Ø    | s<br>(%) | m<br>(mg) | Ø    | s<br>(%) |
| 1      | 36,0      | 45,9 | -21,50   | 41,9      | 42,6 | -1,74    | 51,4      | 46,6 | 10,21    |
| 2      | 53,6      |      | 16,88    | 38,6      |      | -9,47    | 50,6      |      | 8,49     |
| 3      | 42,8      |      | -6,67    | 40,5      |      | -5,02    | 47,8      |      | 2,49     |
| 4      | 51,4      |      | 12,08    | 40,1      |      | -5,96    | 48,8      |      | 4,63     |
| 5      | 47,8      |      | 4,23     | 50,6      |      | 18,67    | 38,8      |      | -16,81   |
| 6      | 45,0      |      | -1,88    | 38,8      |      | -9,01    | 50,1      |      | 7,42     |
| 7      | 46,4      |      | 1,18     | 36,4      |      | -14,63   | 46,3      |      | -0,73    |
| 8      | 46,2      |      | 0,74     | 47,1      |      | 10,46    | 41,8      |      | -10,38   |
| 9      | 40,8      |      | -11,03   | 46,6      |      | 9,29     | 44,0      |      | -5,66    |
| 10     | 48,6      |      | 5,97     | 45,8      |      | 7,41     | 46,8      |      | 0,34     |

**Tabulka 17: Vliv teploty uchovávání na hmotnostní stejnoměrnost - D10C**

| pořadí    | RP1       |      |          | RP2       |      |          | RP3       |      |          |
|-----------|-----------|------|----------|-----------|------|----------|-----------|------|----------|
|           | m<br>(mg) | Ø    | s<br>(%) | m<br>(mg) | Ø    | s<br>(%) | m<br>(mg) | Ø    | s<br>(%) |
| <b>1</b>  | 50,7      | 46,8 | 8,43     | 51,4      | 43,8 | 17,27    | 44,9      | 44,4 | 1,04     |
| <b>2</b>  | 49,1      |      | 5,00     | 42,3      |      | -3,49    | 42,9      |      | -3,47    |
| <b>3</b>  | 47,0      |      | 0,51     | 43,4      |      | -0,98    | 47,0      |      | 5,76     |
| <b>4</b>  | 45,5      |      | -2,69    | 39,0      |      | -11,02   | 42,2      |      | -5,04    |
| <b>5</b>  | 37,1      |      | -20,66   | 41,0      |      | -6,46    | 44,9      |      | 1,04     |
| <b>6</b>  | 51,2      |      | 9,50     | 51,2      |      | 16,81    | 44,5      |      | 0,14     |
| <b>7</b>  | 48,3      |      | 3,29     | 47,3      |      | 7,92     | 39,8      |      | -10,44   |
| <b>8</b>  | 46,1      |      | -1,41    | 43,3      |      | -1,21    | 41,2      |      | -7,29    |
| <b>9</b>  | 44,9      |      | -3,98    | 43,8      |      | -0,07    | 43,5      |      | -2,12    |
| <b>10</b> | 47,7      |      | 2,01     | 35,6      |      | -18,78   | 53,5      |      | 20,39    |



**Obr. 8: Vliv teploty na hmotnost dávky**

**Tabulka 18: Výsledky dvoufaktorové analýzy rozptylu (ANOVA) pro hodnocení vlivu teploty na hmotnost dávky a rozdílu mezi jednotlivými šaržemi RP**

| Zdroj variability | SS      | Rozdíl | MS    | F    | Hodnota P | F krit |
|-------------------|---------|--------|-------|------|-----------|--------|
| Šarže             | 50.73   | 2.00   | 25.36 | 1.36 | 0.26      | 3.03   |
| Teplota           | 3.14    | 1.00   | 3.14  | 0.17 | 0.68      | 3.87   |
| Interakce         | 26.67   | 2.00   | 13.33 | 0.72 | 0.49      | 3.03   |
| Dohromady         | 5479.96 | 294.00 | 18.64 |      |           |        |
| Celkem            | 5560.50 | 299.00 |       |      |           |        |

**Tabulka 19: Stejnoměrnost dávkových jednotek při teplotě uchovávání 25° C**

|            |            | <b>Ø (mg)</b> | <b>s (mg)</b> | <b>%T</b> | <b>M</b> | <b>k·s</b> | <b>AV</b> |
|------------|------------|---------------|---------------|-----------|----------|------------|-----------|
| <b>D1R</b> | <b>RP1</b> | 22,2          | 1,7           | 98,7      | 22,2     | 4,08       | <b>4</b>  |
|            | <b>RP2</b> | 21,0          | 1,7           | 93,3      | 22,1625  | 4,08       | <b>5</b>  |
|            | <b>RP3</b> | 21,8          | 2,7           | 96,9      | 22,1625  | 6,48       | <b>7</b>  |
| <b>D3R</b> | <b>RP1</b> | 22,1          | 1,2           | 98,2      | 22,1625  | 2,88       | <b>3</b>  |
|            | <b>RP2</b> | 23,0          | 1,6           | 102,2     | 22,8375  | 3,84       | <b>4</b>  |
|            | <b>RP3</b> | 22,5          | 3,4           | 100,0     | 22,5     | 8,16       | <b>8</b>  |
| <b>D5R</b> | <b>RP1</b> | 21,9          | 1,9           | 97,3      | 22,1625  | 4,56       | <b>5</b>  |
|            | <b>RP2</b> | 21,3          | 3,0           | 94,7      | 22,1625  | 7,2        | <b>8</b>  |
|            | <b>RP3</b> | 23,9          | 2,2           | 106,2     | 22,8375  | 5,28       | <b>6</b>  |
| <b>D7R</b> | <b>RP1</b> | 22,3          | 1,7           | 99,1      | 22,3     | 4,08       | <b>4</b>  |
|            | <b>RP2</b> | 24,0          | 1,6           | 106,7     | 22,8375  | 3,84       | <b>5</b>  |
|            | <b>RP3</b> | 22,5          | 1,7           | 100,0     | 22,5     | 4,08       | <b>4</b>  |
| <b>D9R</b> | <b>RP1</b> | 22,8          | 2,5           | 101,3     | 22,8     | 6          | <b>6</b>  |
|            | <b>RP2</b> | 21,2          | 2,3           | 94,2      | 22,1625  | 5,52       | <b>6</b>  |
|            | <b>RP3</b> | 23,2          | 2,0           | 103,1     | 22,8375  | 4,8        | <b>5</b>  |

**Tabulka 20: Stejnoměrnost dávkových jednotek při teplotě uchovávání 8° C**

|             |            | <b>Ø (µg)</b> | <b>s (µg)</b> | <b>%T</b> | <b>M</b> | <b>k·s</b> | <b>AV</b> |
|-------------|------------|---------------|---------------|-----------|----------|------------|-----------|
| <b>D2C</b>  | <b>RP1</b> | 22,5          | 2,2           | 100,0     | 22,5     | 5,28       | <b>5</b>  |
|             | <b>RP2</b> | 21,3          | 2,2           | 94,7      | 22,1625  | 5,28       | <b>6</b>  |
|             | <b>RP3</b> | 23,2          | 1,8           | 103,1     | 22,8375  | 4,32       | <b>5</b>  |
| <b>D4C</b>  | <b>RP1</b> | 22,8          | 1,4           | 101,3     | 22,8     | 3,36       | <b>3</b>  |
|             | <b>RP2</b> | 21,8          | 1,5           | 96,9      | 22,1625  | 3,6        | <b>4</b>  |
|             | <b>RP3</b> | 21,0          | 2,5           | 93,3      | 22,1625  | 6          | <b>7</b>  |
| <b>D6C</b>  | <b>RP1</b> | 22,6          | 2,3           | 100,4     | 22,6     | 5,52       | <b>6</b>  |
|             | <b>RP2</b> | 22,7          | 2,4           | 100,9     | 22,7     | 5,76       | <b>6</b>  |
|             | <b>RP3</b> | 22,5          | 1,5           | 100,0     | 22,5     | 3,6        | <b>4</b>  |
| <b>D8C</b>  | <b>RP1</b> | 22,3          | 2,5           | 99,1      | 22,3     | 6          | <b>6</b>  |
|             | <b>RP2</b> | 23,1          | 1,7           | 102,7     | 22,8375  | 4,08       | <b>4</b>  |
|             | <b>RP3</b> | 23,4          | 1,7           | 104,0     | 22,8375  | 4,08       | <b>5</b>  |
| <b>D10C</b> | <b>RP1</b> | 23,2          | 2,0           | 103,1     | 22,8375  | 4,8        | <b>5</b>  |
|             | <b>RP2</b> | 21,7          | 2,5           | 96,4      | 22,1625  | 6          | <b>6</b>  |
|             | <b>RP3</b> | 22,0          | 1,9           | 97,8      | 22,1625  | 4,56       | <b>5</b>  |



## 7 Diskuse

Spreje se od nosních kapek liší způsobem aplikace a balením. Jsou baleny ve stlačitelných plastových lahvích či nádobkách s dávkovacím stlačitelným ventilem.<sup>3</sup>

Nosní spreje jsou preferovány z důvodu prodloužení kontaktu, přesnosti a reprodukovatelnosti dávky. Rozprašování se provádí buď pomocí mechanického rozprašovače nebo dávkovacího tlakového inhalátoru. Mechanický rozprašovač se musí před prvním použitím natlaakovat několikanásobným stiskem rozprašovače.<sup>2</sup>

Ve své diplomové práci jsem se zaměřila na studium faktorů, které mohou ovlivňovat dávkování nosních sprejů. Použila jsem registrovaný přípravek (RP) povahy dávkovaného nosního spreje s mechanickým rozprašovačem, u kterého jsem měřila fyzikálně-chemické vlastnosti jako je hustota, viskozita, povrchové napětí a osmolalita. Zhodnotila jsem celkový počet dávek u tří šarží přípravku a rozsah rozprašení spreje v závislosti na objemu přípravku. Dále jsem se věnovala hodnocení hmotnostní a dávkové stejnoměrnosti v závislosti na střídání teploty skladování v chladu (8° C) a při pokojové teplotě (25° C) po dobu deseti dnů.

### 7.1 Fyzikálně chemické vlastnosti

Z fyzikálně chemických vlastností jsem sledovala hustotu, osmolalitu, viskozitu a povrchové napětí. Výsledky jsem zaznamenala do tabulky 1.

Výrobce uvádí, že přípravek obsahuje léčivou látku, monohydrát kyseliny citronové, dihydrát natrium-citrátu jako pufovací přísady, glycerol 85%, benzalkonium-chlorid a čištěnou vodu. Použité pomocné látky ovlivňují fyzikálně-chemické vlastnosti přípravku.

Hustotu jsem sledovala při 8° C, 20° C a 25° C. Hustota je nepřímo úměrná teplotě. Registrovaný přípravek obsahuje jako pomocnou látku glycerol 85%. Viskozita se však blíží viskozitě vody a glycerol 85% tedy výrazně viskozitu přípravku neovlivnil. Povrchové napětí přípravku bylo 55,3 mN/m. Bylo tedy nižší, než povrchové napětí vody, které činí asi 72,7 mN/m<sup>27</sup>, což je důsledkem přidavku protimikrobní přísady benzalkonium-chlorid, který povrchové napětí snižuje.

Osmolalita 0,05% roztoku oxymetazolinu bez přidaných pomocných látek byla 1 mosmol/kg. Zjistila jsem, že osmolalita RP byla 296 mosmol/kg. Protože je hodnota mírně vyšší, než fyziologické hodnota plazmy (286 mosmol/kg<sup>28</sup>), je přípravek slabě hypertonický. Izotonizaci zajišťuje přidaný citrátový pufr (izotonicko-euacidní úprava).

V tabulce 2 je zaznamenán celkový počet dávek v lahvičce. Celkový zjištěný průměr počtu dávek byl 174 s intervalem spolehlivosti  $\bar{O} \pm 1,96 \cdot s$  (156-193).

## 7.2 Intenzita rozprášení

Nosní spreje se aplikují do nosní dutiny rozprášením, jak ilustruje obr. 9.



**Obr. 9: Aplikace spreje do nosní dutiny<sup>29</sup>**

Rozsah rozprášení rozhoduje o lokalizaci přípravku a době jeho setrvání na nosní sliznici.<sup>12</sup>

Intenzitu rozprášení jsem hodnotila pomocí průměru kruhu (*spray diameter, SD*), vzniklého po rozprášení přípravku na papír ze vzdálenosti 5 cm.<sup>18</sup> Sledovala jsem vliv objemu přípravku na *SD*. Rozprašovala jsem RP s plnou lahvičkou o obsahu 10 ml, s polovičním obsahem 5 ml a zbytkovým obsahem 1 ml. Určení *SD* ilustruje obrázek 4. Výsledky měření *SD* jsem zaznamenala do tabulky 3. Na obrázku 5 je zřetelný vliv objemu přípravku na *SD* pro jednotlivá balení přípravku. U tří z pěti přípravků se *SD* se zmenšováním objemu postupně zvětšovalo.

Z výsledků statistického hodnocení ANOVA v tabulce 4 vyplývá, že obsah přípravku je pro dávku významný ( $P \geq 99\%$ ). To je patrné také z obrázku 6, který ilustruje vliv zbytkového objemu 10 ml, 5 ml a 1 ml na průměrné *SD* pro 5 hodnocených RP.

Z výsledků vyplývá, že rozsah rozprášení (*SD*) je tím větší, čím menší je objem přípravku v lahvičce.

### **7.3 Vliv zbytkového objemu na hmotnost dávky**

U deseti sprejů z každé ze tří šarží jsem sledovala stejnoměrnost dávkových jednotek v závislosti na objemu přípravku.

Nejdříve jsem lahvičku natlakovala 7 násobným stiskem rozprašovače a následujících 5 dávek odstříkala dle metody ČL popsané v části 7.3.6. Po stanovení hmotnosti 1. dávky ( $m_{12}$ ) jsem z přípravku dále odstříkala vždy dvacet dávek a každou 21. následující dávku zvážila a určila její hmotnost. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 5-7. Vliv objemu na hmotnost dávky ilustruje obrázek 7, z něhož vyplývá, že se zmenšujícím se objemem se hmotnost dávky zvětšuje. Závislost je nelineární.

### **7.4 Vliv teploty uchovávání na hmotnost dávky**

V diplomové práci byly použity 3 rozdílné šarže RP, z nichž jedna pocházela z distribuce v Německu. Zatímco německý příbalový leták uvádí, že teplota uchovávání nesmí přesáhnout 25°C, v českém příbalovém letáku RP výrobce pokyny pro uchovávání neuvádí.

Vliv teploty uchovávání na stejnoměrnost dávkových jednotek jsem sledovala po dobu deseti dnů tak, že jsem přípravky uchovávala střídavě po dobu 24 hodin při pokojové teplotě ( $25 \pm 0,5^\circ\text{C}$ ) a v chladu při teplotě  $8 \pm 0,5^\circ\text{C}$ . Výsledky jsou uvedeny v tabulce 8-17. Vliv teploty na hmotnost dávky ilustruje obrázek 8.

Z výsledků měření bylo zřejmé, že se hmotnost dávky v závislosti na teplotě uchovávání nemění. To potvrdily také výsledky statistického hodnocení pomocí ANOVA (tabulka 18), ze kterých vyplývá, že vliv teploty uchovávání je nevýznamný ( $P \geq 0,95$ ). Nevýznamný je také rozdíl mezi třemi sledovanými šaržemi.

### **7.5 Hmotnostní a dávková stejnoměrnost**

Český lékopis požaduje pro dávkované nosní spreje hodnocení dávkové stejnoměrnosti. Postupovat je možné podle pokynů zkoušky "Stejnóměrnost dávkových jednotek" uvedené v článku Nasalia nebo podle článku 2.9.40. Lékopis

uvádí postup odběru dávky, nestanovuje však přesné požadavky, která odebraná dávka by se měla hodnotit (zda má být sprej plný, nebo kolikrát ho odstříknout). Vzhledem k významnému vlivu zbytkového objemu na dávku, by měl být zbytkový objem přípravku pro objektivní hodnocení hmotnostní a dávkové stejnoměrnosti vždy stejný. V případě této práce byla vždy odebírána počáteční dávka  $m_{12}$ , což odpovídalo zbytkovému objemu cca 10 ml. Postup odběru dávky je uveden v Experimentální části (7.3.6 Stejnoměrnost dávkových jednotek).

### **7.5.1 Hmotnostní stejnoměrnost**

Hmotnostní stejnoměrnost sprejů jsem hodnotila v souladu s pokyny ČL 2009, článek Nasalia. Z průměrů deseti zvážených dávek v mg jsem vypočítala procentuální odchylku jednotlivých dávek od průměru. Lékopis udává, že přípravek vyhovuje zkoušce, jestliže se nejvýše dvě jednotlivé hmotnosti liší o více než 25% od průměrné hmotnosti dávky a žádná se neliší o více než 35%. Výsledky hodnocení jsem zaznamenala do tabulky 8-17 a vyznačila hodnoty přesahující limit 25%. Tuto hodnotu překročily dvě dávky, které byly odebrány po skladování za pokojové teploty. Přípravek vyhovoval požadavkům lékopisu. Po skladování za pokojové teploty byla hmotnost dávek variabilnější, než hmotnost dávek po skladování za chladu. To dokládají hodnoty směrodatných odchylek v tabulkách 8-17.

### **7.5.2 Hmotnostní proměnlivost dávky**

Hmotnostní proměnlivost dávky jsem určila v souladu s pokyny ČL 2009, článek 2.9.40 Stejnoměrnost dávkových jednotek. Pro určení hodnoty přijatelnosti (AV) je nutné znát cílovou hodnotu (T) obsahu účinné látky v dávce. Tuto informaci obsahuje pouze německý příbalový leták, v českém příbalovém letáku není uvedena velikost dávky ani obsah léčiva v jednotlivé dávce. Výrobce uvádí, že jedna dávka (45  $\mu$ l) obsahuje 22,5  $\mu$ g oxymetazolin hydrochloridu.

Postupem uvedeným v experimentální části (7.3.7 Zpracování výsledků) jsem u každého z deseti jednotlivých obalů zjistila hmotnost  $m_{12}$  (mg) a pomocí hustoty za příslušné teploty jsem vypočítala odpovídající objem dávky v  $\mu$ l. V tomto objemu jsem vypočítala obsah léčivé látky v  $\mu$ g, vypočítala průměr a směrodatnou odchylku.

Následně jsem vypočítala hmotnostní proměnlivost obsahu (%T) od cílové dávky (T) udávanou výrobcem a hodnotu přijatelnosti AV (*acceptance value*). Výsledky jsem zaznamenala do tabulky 19-20. Hodnoty AV musí být dle lékopisu do 15.

Zjištěné hodnoty AV se pohybovaly v rozmezí 3 – 8 pro teplotu 25°C a v rozmezí 3 – 7 pro teplotu 8°C. Všechny hodnoty AV byly nižší než 15 a přípravek tedy vyhovoval lékopisu. Za pokojové teploty však byly hodnoty variabilnější, což koresponduje s výsledky hodnocení hmotnostní stejnoměrnosti.

## 8 Závěry

Z výsledků této experimentální diplomové práce vyplynuly tyto závěry:

- Viskozita přípravku byla srovnatelná s vodou. Přípravek byl mírně hypertonický.
- Průměrný počet dávek byl 174 v rozmezí 156-193 ( $\bar{x} \pm 1,96 \cdot s$ ).
- Vliv objemu na průměr rozprášení (*spray diameter*) byl významný ( $P \geq 0,99$ ). Se snižujícím se objemem v rozmezí 10, 5 a 1 ml se průměr rozprášení zvětšoval.
- Vliv zbytkového objemu přípravku na hmotnost dávky byl významný ( $P \geq 0,99$ ). Se zmenšujícím se zbytkovým objemem se dávka nelineárně zvyšovala.
- Střídavé uchovávání při teplotě 8° C a 25° C po dobu 10 dní nemá významný ( $P \geq 0,95$ ) vliv na hmotnost dávky.
- Nebyl zjištěn významný ( $P \geq 0,95$ ) rozdíl mezi hmotnostmi dávek u tří hodnocených šarží přípravku.
- Přípravek vyhovoval požadavkům lékopisu na hodnocení hmotnostní stejnoměrnosti a hmotnostní proměnlivosti dávky.

## 9 Použitá literatura

---

1. PIRES, A., FORTUNA, A., ALVES G., FALCAO, A.: Intranasal Drug Delivery: How, Why and What for? *J. Pharm. Sci.*, 2009, 12 (3), s. 288-311
2. KUBLIK, H., VIDGREN, M. T.: Nasal delivery systems and their effect on deposition and absorption. *Adv. Drug Del. Rev.*, 1998, 29, s. 157-177
3. BAUER, K. H., FRÖMMING, K. H., FÜHRER C. - *Lehrbuch der Pharmazeutischen Technologie*, 7. Aufgabe, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, 2002, 486 s., ISBN 3-8047-1825-6, s. 235
4. AURORA, J.: *Development of Nasal Delivery Systems: A Review*, k 30. 8. 2012  
<http://www.drugdeliverytech.com/ME2/dirmod.asp?sid=&nm=&type=Publishing&mod=Publications%3A%3AArticle&mid=8F3A7027421841978F18BE895F87F791&tier=4&id=9EB19EB2F29F462089CE081473F5F3CA>
5. BEHL, C. R., PIMPLASKAR, H.K., SILENO, A.P., J. MEIRELES, ROMEO, V.D.: Effects of physicochemical properties and other factors on systemic nasal drug delivery. *Adv. Drug Del. Rev.*, 1998, 29, s. 89-116
6. Český lékopis 2009, Grada Publishing, a.s., Praha, 2009, 3942 s., ISBN 978-80-247-2994-7, Nasalia. s. 806-808
7. Český lékopis 2009, Grada Publishing, a.s., Praha, 2009, 3942 s., ISBN 978-80-247-2994-7, Pulveres adspersorii. s. 822-823
8. Český lékopis 2009, Grada Publishing, a.s., Praha, 2009, 3942 s., ISBN 978-80-247-2994-7, Praeparata semisolidia ad usum cutaneum. s. 820-821
9. Český lékopis 2009, Grada Publishing, a.s., Praha, 2009, 3942 s., ISBN 978-80-247-2994-7, Styli. s. 826-827
10. MYGIND, N., DAHL, R.: Anatomy, physiology and function of the nasal cavities in health and disease. *Adv. Drug Del. Rev.*, 1998, 29, s. 3-12
11. BAŠOVÁ, M.: *Nosní přípravky. Transnasální aplikace*. Diplomová práce. 2011. Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta, Hradec Králové, 76 s.

- 
12. HARRIS, A. S., SVENSSON, E., WAGNER, Z. G., LETHAGEN, S., NILSSON, I. M.: Effect of Viscosity on Particle Size, Deposition, and Clearance of Nasal Delivery Systems Containing Desmopressin. *J. Pharm. Sci.*, 1988, 5, s. 405-408
13. LIPPMANN, M., YEATES, D.B., ALBERT, R.E.: Deposition, retention, and clearance of inhaled particles, *Br. J. Ind. Med.*, 1980, 37, s. 337–362
14. Převzato z: CLAY, M., PAVIA, D., CLARKE S., Effect of aerosol particle size on bronchodilatation with nebulised terbutaline in asthmatic subjects, *Thorax*, 1986, 41, s. 364-368
15. CHENG, Y.-S., YEH, H.-C., GUILMETTE, R.A., SIMPSON, S.Q., CHENG, K.H., SWIFT, D.L.: Nasal deposition of ultrafine particles in human volunteers and its relationship to airway geometry. *Aerosol Sci. Technol.*, 1996, 25, s. 274–291
16. MYGIND, N.: *Nasal Allergy*, 2. vydání, 1979, Blackwell Science Ltd, 344 s., ISBN 978-0632003846
17. MERKUS, P.: *Current aspects of nasal drug delivery*, Disertační práce, 2006, Buijten & Schipperheijn, Amsterdam, 199 s., ISBN 90-9020278-1, k 2. 9. 2012  
<http://dare.uva.nl/document/18441>
18. FDA documentation: Guidance for Industry: Nasal Spray and Inhalation Solution, Suspension, and Spray Drug Products — Chemistry, Manufacturing, and Controls Documentation. 1999, Rockville, 46 s., k 2. 9. 2012  
<http://www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/00/backgrd/3609b1k.pdf>
19. KLOCKER, N., KRAMER, A., VERSE, T., SIKORA, C., RUDOLPH, P., DAESCHLEIN, G.: Antimicrobial safety of a preservative-free nasal multiple-dose drug administration system, k 30. 8. 2012  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0939641103002418>
20. ILUM, L., JORGENSEN, H., BISGAARD, H., KROGSGAARD, O., ROSSING, N.: Bioadhesive microspheres as a potential nasal drug delivery system, *Int. J. Pharm.*, 1987, 39, s. 189–199



- 
21. SCHIPPER, N.G.M., ROMELIJN, S.G., VERHOEF, J.C., MERKUS, F.W.H.M.: Nasal insulin delivery with dimethyl-b-cyclodextrin as an absorption enhancer in rabbits: Powder more effective than liquid formulations, *Pharm. Res.*, 1993, 10 (5), s. 682–686.
22. Aptar pharma, k 30. 8. 2012  
<http://www.aptar.com/pharma/prescription-division/products/products/uds>
23. Asthma Society od Canada, k 30. 8. 2012  
<http://asthma.ca/adults/treatment/turbuhaler.php>
24. Český lékopis 2009, Grada Publishing, a.s., Praha, 2009, 3942 s., ISBN 978-80-247-2994-7, Osmolalita. s. 117
25. Dokumentace výrobce Sklářny Kavalier, Sázava
26. Český lékopis 2009, Grada Publishing, a.s., Praha, 2009, 3942 s., ISBN 978-80-247-2994-7, Stejnoměrnost dávkových jednotek. s. 391-394
27. Wikipedie-otevřená encyklopedie, k 1. 9. 2012  
[http://cs.wikipedia.org/wiki/Povrchov%C3%A9\\_nap%C4%B9t%C3%AD](http://cs.wikipedia.org/wiki/Povrchov%C3%A9_nap%C4%B9t%C3%AD)
28. ZADÁK, Z.: Výživa v intenzivní péči. 2. vyd., Grada Publ., Praha, 2008, 542 s., ISBN 978-80-247-2844-5
29. Nasivin, MERCK, Německo, *Příbalový leták*